Série A, n° 4419
N° d'ordre : 5267

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Mme Claude PICARD

Première thèse. — Contribution a la connaissance de la vernalisation, de ses particularités et de sa signification chez « Œnothera biennis » L. var. « sulfurea » de Vries.

Deuxième thèse. — Propositions données par la Faculté.

Les méthodes d'étude du bilan d'eau au niveau d'un peuplement végétal.

Soutenues le 1er avril 1965 devant la Commission d'examen.

MM. Chouard ..... *Président.*

Ulrich ..... } *Examinateurs.*
Lemée ..... }

PARIS
MASSON & Cie, ÉDITEURS
120, Boulevard Saint-Germain, 120

1965

Série A, n° 4419
N° d'ordre : 5267

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Mme Claude PICARD

Première thèse. — Contribution a la connaissance de la vernalisation, de ses particularités et de sa signification chez « Œnothera biennis » L. var. « sulfurea » de Vries.

Deuxième thèse. — Propositions données par la Faculté.

Les méthodes d'étude du bilan d'eau au niveau d'un peuplement végétal.

Soutenues le 1er avril 1965 devant la Commission d'examen.

MM. Chouard ..... *Président.*

Ulrich ..... } *Examinateurs.*
Lemée ..... }

PARIS
MASSON & Cie, ÉDITEURS
120, Boulevard Saint-Germain, 120
1965

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen ..... M. ZAMANSKY.

PROFESSEURS

G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.
PRENANT	T	Anat. et Histol. comp.
GRASSÉ	T	Evol. des êtres organisés.
PRÉVOST	T	Chimie organique.
WYART	T	Minéralogie et cristallogr.
TEISSIER	T	Zoologie.
MANGENOT	T	Biologie végétale (Orsay).
P. AUGER	T	Physique quant. et relat.
MONNIER	T	Physiologie générale.
PIVETEAU	T	Paléontologie.
ROCARD	T	Physique (E. N. S.).
H. CARTAN	T	Mathématiques (E. N. S.).
LAFFITTE	T	Chimie générale.
FAVARD	T	Géométrie supérieure.
COULOMB	T	Physique du Globe.
Mlle COUSIN	T	Biol. animale (S.P.C.N.).
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.
P. DRACH	T	Zoologie.
KASTLER	T	Physique (E. N. S.).
EPHRUSSI	T	Génétique.
RIVIÈRE	T	Géologie (S. P. C. N.) et sédimentologie (Orsay).
GAUTHERET	T	Biol. végét. (P. C. B.).
R. LUCAS	T	Recherches physiques.
A. THOMAS	T	Biologie cellulaire.
ARNULF	T	Optique appliquée.
M. MORAND	T	Enseign. de physique.
SOLEILLET	T	Physique (P. C. B.).
FORTIER	T	Mécan. expér. des fluides.
PETIT	T	Biologie maritime.
QUENEY	T	Météorologie et dynamique atmosphérique.
GALLIEN	T	Embryologie.
EICHHORN	T	Botanique.
DE CUGNAC	T	Biol. végét. (S. P. C. N.).
Mlle CAUCHOIS ...	T	Chimie physique.
THELLIER	T	Physique du Globe.
L'HÉRITIER	T	Biologie générale (Orsay).
GRIVET	T	Radio-Electricité (Orsay).
PONCIN	T	Mécanique générale.
DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des nombres.
QUELET	T	Chimie organique.
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée.
CHAMPETIER	T	Chimie macromolécul.
CUVILLIER	T	Micropaléontologie.
JUNG	T	Géologie.
TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique.
WIEMANN	T	Chimie org. et structur.
JACQUINOT	T	Spectroscopie et phys. céleste (Orsay).
VASSY	T	Physique de l'atmosph.
DESTOUCHES	T	Théories physiques.
AMIEL	T	Chimie générale.
HOCART	T	Minéralogie et cristallogr.
J.-P. MATHIEU ...	T	Physique (Optique).
COUTEAUX	T	Cytologie.
MAY	T	Zoologie (Orsay).
CHOQUET	T	Théor. des fonctions et topologie.
FELDMANN	T	Biologie végétale marine.
GUINIER	T	Physique des solides (Orsay).
JOST	T	Physiologie comparée.
FORTET	T	Calcul des probabilités et physique mathémat.
SCHWARTZ	T	Calc. diff. et intégr.
CHOUARD	T	Physiologie végétale.
MALAVARD	T	Aviation (Tech. aéron.).
BRELOT	T	Calcul diff. et intégral.
NORMANT	T	Synthèse organ. générale.
BÉNARD	T	Chimie minérale.
BUVAT	T	Botanique (E. N. S.).
DUGUÉ	T	Statistiques mathémat.
SOULAIRAC	T	Psychophysiologie.
ULRICH	T	Physiol. végétale appliq.
MARÉCHAL	T	Optique théor. et appl.
KIRRMANN	T	Théories chimiques.
CHADEFAUD	T	Botanique.
Mlle LE BRETON ..	T	Physiol. de la nutrition.
LELONG	T	Application de l'analyse à la géométrie.
DEVILLERS	T	Anat. et histol. comp.
EHRESMANN	T	Topologie algébrique.
FRANÇON	T	Physique (S. P. C. N.).
GLANGEAUD	T	Géogr. phys. et géol. dyn.
GODEMENT	T	Mathématiques (M. G. P.).
PISOT	T	Technique mathématique de la physique.
E. ROCH	T	Géologie.
SCHATZMANN	T	Astrophysique.
TERMIER	T	Géologie générale.
ZAMANSKY	T	Mathémat. générales.
LENNUIER	T	Physique (M. G. P.).
RIZET	T	Génétique (Orsay).
ROUTHIER	T	Géologie appliquée.
Mme TONNELAT ...	T	Physique théorique.
DIXMIER	T	Mathématiques (M. P. C.).
SOUCHAY	T	Chimie générale.
AIGRAIN	T	Electrotech. génér.
BRUSSET	T	Chimie systématique.
M. LÉVY	T	Physique théorique et hautes énergies (Orsay).
Mme CHAIX	T	Chimie biologique.
Mme HUREL-PY ..	T	Biol. végétale (P. C. B.).
PIAUX	T	Chimie (M. P. C.).
BRUN	T	Mécan. théor. des fluides.
LEDERER	T	Chimie biolog. (Orsay).
Mme DUBREIL.....	T	Mathématiques (Agrég.).
Mme LELONG	T	Mathémat. II (E. N. S.).
BELLAIR	T	Géologie (S. P. C. N.).
COTTE	T	Physique électricité.
J.-E. DUBOIS.....	T	Chimie organique.
LAMOTTE	T	Zoologie (E. N. S.).
A. MICHEL	T	Chimie minér. (Orsay).
OLMER	T	Energétique générale.
ROUAULT	T	Electricité (Orsay).
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée.
BARCHEWITZ	T	Chimie physique.
BROSSEL	T	Physique atomique.
BUSER	T	Physiologie comparée.
CAMUS	T	Physiologie végétale.
CASTAING	T	Phys. II Thermo (Orsay).
CURIEN	T	Minéral. et cristallogr.
MOYSE	T	Physiol. végét. (Orsay).
NOIROT	T	Evolut. des Etres organ.
PANNETIER	T	Chimie générale.
POSSOMPÈS	T	Zoologie.
PULLMANN	T	Chimie quantique.
TEILLAC	T	Physique nucl. et radioactivité (Orsay).
TONNELAT	T	Biol. phys.-chim. (Orsay).
VILLE	T	Econométrie.
WILLEMART	T	Chimie (P. C. B.).
DODÉ	T	Chimie (Orsay).
ERMANN	T	Recherches physiques.

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK

Guinochet	T	Biol. vég. (S. P. C. N.) (Orsay).
Rollet	T	Chimie minérale.
Mlle Josien	T	Chimie (S. P. C. N.).
Chevalley	T	Géométr. algébr. et théor. des groupes.
Arnoult	T	Electronique (Orsay).
Chapelle	T	Physique I (Orsay).
Delange	T	Mathématiques I (Orsay).
Deny	T	Mathémat. gén. (Orsay).
Germain	T	Mécan. théor. des fluides.
G. Lucas	T	Géologie.
Allard	T	Chimie physique.
Berthelot	T	Phys. des particules fond. (Orsay).
Bricart	T	Météorologie et phys. de l'atmosphère.
Mme Albe-Fessard	T	Psychophysiologie.
Friedel	T	Phys. des solides (Orsay).
M. Julia	T	Etudes des molécules naturelles complexes.
Lender	T	Biol. animale (S. P. C. N.) (Orsay).
Magat	T	Physico-chimie des radio-éléments.
Mlle Quintin	T	Electrochimie.
Monod	T	Chimie du métabolisme.
Benoit	T	Physiol. animale (Orsay).
De Possel	T	Analyse numérique.
Charlot	T	Chimie analytique.
Lemée	T	Ecologie végétale (Orsay).
Guérin	T	Chimie (M. P. C.) (Orsay).
M. Chatelet	T	Chimie (P. C. B.).
Jean	T	Physique nucléaire (Orsay).
Mattler	T	Physique (S. P. C. N.)
Bergerard	T	Zoologie (Orsay).
Bertein	T	Electronique (Orsay).
Bouissières	T	Radiochimie.
Mme Couture	T	Thermodynam. et mécan. physique.
Ellenberger	T	Géol. des grandes régions du globe.
Franc	T	Biol. animale (P. C. B.).
Schnell		Botanique tropic. (Orsay).
Stolkowski	T	Physiologie générale.
Acher	T	Chimie biologique.
Baudoin		Biol. animale (P. C. B.).
Beaumont		Biol. animale (S.P.C.N.).
Blamont	T	Géophys. Ionosphère.
Bourreau	T	Botanique.
D. Curie		Physique (M. G. P.).
Durand-Delga	T	Géologie.
Fréon	T	Chimie organ. (Orsay).
Heller	T	Physiologie végétale.
Tortrat	T	Calcul des probabilités.
Cailleux	T	Géologie (S. P. C. N.).
Magnan	T	Physique (S. P. C. N.).
Daudel	T	Mécan. ondul. appl. à la chimie théor. et à la phys. nucl.
Mlle Fourcroy		Biol. végét. (S. P. C. N.).
Mme Choquet-Bruhat	T	Méc. Analytique et Méc. céleste.
Mlle Veil	T	Physiologie générale.
Lwoff	T	Microbiologie.
Siestrunck	T	Mécan. Phys. et Expérim.
Lacombe	T	Métallurgie des métaux Nucléaires (Orsay).
Brochart	T	Physique (P. C. B.) (Orsay).
Cabannes	T	Mécanique générale.
Lesieur	T	Mathématiques I (Orsay).
Mazet	T	Mécanique gén. (Orsay).
Caire		Géographie phys. et Géol. dynamique.
Comolet	T	Mécanique des Fluides.
Coraboeuf	T	Physiol. animale (Orsay).
Delloue		Physique de l'exosphère.
Gorenflot		Botanique II (Orsay).
Houillon		Biol. animale (P. C. B.).
J. Jullien		Chimie (S.P.C.N.) (Orsay).
Malgrange	T	Tech. Math. de la phys. (Orsay).
Olivier		Anthropologie.
Nozeran	T	Botanique II (Orsay).
Blanc-Lapierre	T	Phys. (E. N. S.) (Orsay).
Chevaugeon	T	Botanique (Orsay).
Kahane	T	Mathématiques (Orsay).
Samuel	T	Mathémat. (E. N. S. fém.).
Kourganoff	T	Astronomie (Orsay).
Thiry	T	Mécanique céleste.
Abeles		Physique (S. P. C. N.).
Amat	T	Physique (P. C. B.).
Auboin	T	Géologie.
Mme Benoit-Gueutal	T	Phys. nucl. et radio-act. (Orsay).
Bougis		Biologie marine (Villefranche-sur-Mer).
Bruhat	T	Mathématiques (M. P. C.).
Brunn	T	Géol. histor. (Orsay).
Chabbal	T	Phys. (M. G. P.) (Orsay).
Deheuvels	T	Mathématiques propé.
D'Espagnat	T	Physique théor. (Orsay).
Furon	T	Géologie (S. P. C. N.).
Mme Gans	T	Génétique.
Genevès		Biologie végét. (P. C. B.).
Guilbert		Phys. (C. S. U. Orléans).
Hupé	T	Pétrographie.
Hollande	T	Biologie générale.
Lions	T	Analyse numérique.
Maitte	T	Chimie (P. C. B.).
Meyer		Physique propédeutique.
Nicolas		Géologie appliquée.
Panigel		Biologie générale.
Ravier		Pétrographie.
Roseau	T	Méc. théor. des fluides.
Roubine	T	Electronique.
Silber	T	Chimie (P. C. B.).
Uebersfeld	T	Electronique.
Yvon	T	Théories physiques.
Hervé	T	Mathématiques.
Néron	T	Math. (M. P. C.) (Orsay).
Mme Pecker-Wimel	T	Astrophysique.
Balkansky	T	Physique (M. P. C.).
Le Corre	T	Electricité.
Delcroix	T	Physique théor. (Orsay).
Gourdin		Phys. théor. des hautes énergies (Orsay).
Lehmann	T	Phys. exp. des hautes énergies (Orsay).
Nataf	T	Physique nucl. et radio-activité (Orsay).
Echalier		Biologie anim. (P. C. B.).
Barraud		Physiologie cellulaire.
Lioret		Physiol. végét. (Orsay).
Dars		Géologie struct. et géol. appliquée.
Camefort	T	Botanique (agrégation).
Vichniewsky	T	Mécanique industrielle.
Blaquière		Electronique (Orsay).
Arnous	T	Physique théorique.
Tatibouet		Chimie (C. S. U. Orléans).
Malliavin	T	Mathémat. propé. (Orsay).
Gaudemar		Chimie propédeutique.
Perez y Jorba		Phys. exp. des hautes énergies (Orsay).
David	T	Chimie (Agrég. Orsay).
Brousse	T	Mécanique théorique.

Secrétaire général ..... R. Poullain.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41534905_0005

Annales des Sciences Naturelles, Botanique, Paris.
12° Série, Tome **VI**, pp. 197-314

CONTRIBUTION A LA CONNAISSANCE DE LA VERNALISATION, DE SES PARTICULARITÉS ET DE SA SIGNIFICATION CHEZ *ŒNOTHERA BIENNIS* L. VAR. *SULFUREA* DE VRIES

Par C. PICARD.

SOMMAIRE

Introduction 201

Historique 203

I. — L'importance de la vernalisation pour la reproduction des plantes de pays tempérés 204

II. — Vue d'ensemble sur les circonstances et les modalités de la vernalisation 205

III. — Le rôle éventuel de substances de type hormonal dans la vernalisation 207

Le matériel végétal et les techniques de culture 209

I. — Présentation du matériel végétal 209

A. — L'espèce choisie 209

B. — La morphologie de la plante et son cycle de vie dans la nature .. 209

C. — Son habitat et son aire de répartition géographique 210

II. — Techniques de culture des plantes 211

A. — Les différents types de culture 211

1° Cultures en pots 211
2° Cultures sur milieu nutritif 211

B. — Les conditions de vie des plantes 212

1° En serre 212
2° En chambre froide 215
3° Dans les conditions naturelles 217

C. — L'observation des plantes au cours de leur développement 218

CHAPITRE PREMIER. — ***Caractéristiques écophysiologiques de la vernalisation d'Œnothera biennis L.*** 219

I. — LE BESOIN DE VERNALISATION D'*Œnothera biennis* L. : SES CARACTÈRES QUALITATIFS 220

A. — L'absence de réfrigération : ses conséquences pour la mise à fleur 220

B. — Le remplacement éventuel de la réfrigération par une exposition prolongée aux journées courtes 220

C. — L'influence éventuelle des conditions de nutrition sur le besoin de réfrigération 222

D. — Type de réfrigération efficace 224

1° Protocole expérimental 224
2° Expériences et observations 224

E. — Conclusion 229

II. — CARACTÉRISTIQUES QUANTITATIVES DE LA VERNALISATION D'*Œnothera biennis* L. 229

A. — Le besoin de froid et l'âge des plantes 229

1° Essais de vernalisation des graines 229
2° Réfrigération de plantes à l'état de rosettes 230
3° Vernalisation de plantes feuillées après réfrigération des graines 231

B. — Le besoin de réfrigération et la photopériode 232

1° Influence de la photopériode subie avant la réfrigération.... 232
2° Influence de la photopériode subie pendant la réfrigération.. 233

C. — Action d'une réfrigération prolongée 236

D. — Efficacité d'une réfrigération interrompue par des expositions à 15° C et à 18° C 236

III. — L'ÉVOLUTION MORPHOLOGIQUE DE LA PLANTE PENDANT SA VERNALISATION. 238

CHAPITRE II. — ***Essais d'analyse expérimentale du mécanisme de la vernalisation d'Œnothera biennis L.*** 245

I. — LA CONNAISSANCE DES LIEUX DE PERCEPTION DU STIMULUS DE VERNALISATION 246

A. — Divers essais d'amputation d'organes chez des plantes vernalisées 246

1° Ablation du bourgeon terminal dès la fin de la réfrigération.. 246
2° Ablation des grandes feuilles après vernalisation 246

B. — Le rôle des divers organes dans la perception du stimulus de vernalisation 247

1° Essai de vernalisation de rosettes dépourvues de leurs grandes feuilles 247
2° Essai de vernalisation de rosettes dépourvues de leur bourgeon terminal 247
3° Essai de vernalisation de parties souterraines isolées 248
4° Essai de vernalisation de bourgeons terminaux isolés 249
5° Cas des feuilles isolées 251

C. — Conclusion 251

II. — La stabilité de l' « état » vernalisé 251

A. — Action des hautes températures après la réfrigération 251

B. — Action d'une température constante après la réfrigération 252

C. — Action d'une exposition aux journées courtes après la réfrigération 253

D. — Conclusion 254

III. — La propagation et la transmissibilité de l' « état » vernalisé ... 255

A. — La propagation de l' « état » vernalisé dans la plante 255

B. — La transmission de l' « état » vernalisé 256

1° Expériences de greffages 256

2° Essais de transmission de l'aptitude à la floraison par l'application d'extraits de plantes en fleurs 258

IV. — La place de la préparation a l'élongation dans la vernalisation et le remplacement éventuel du froid par la gibbérelline 259

A. — Essai de remplacement total du froid par la gibbérelline 259

1° Précisions techniques 259

2° Expériences et résultats 260

B. — Essai de remplacement partiel du froid par la gibbérelline 263

C. — Conclusion 271

Chapitre III. — ***Structure et évolution de l'apex d'Œnothera biennis L. au cours du traitement réfrigérant et après vernalisation*** 273

I. — Techniques utilisées et plan de l'expérience 273

II. — Résultats 274

A. — Structure et fonctionnement du point végétatif des plantes témoins 274

B. — Structure et fonctionnement du point végétatif des plantes réfrigérées 277

C. — Evolution de l'apex des plantes vernalisées et exposées à des conditions eupériodiques : la mise à fleur 281

III. — Conclusions 283

Chapitre IV. — ***L'évolution de la teneur en acides nucléiques des feuilles d'Œnothera biennis L. au cours de la réfrigération vernalisante*** 287

I. — Techniques d'extraction et de dosage des acides nucléiques dans les feuilles d'onagres 288

A. — Principe de la méthode utilisée 288

B. — Mode opératoire et principales précautions techniques 288

1° Préparation de la poudre sèche contenant les acides nucléiques. 288

2° Extraction des acides nucléiques 289

3° Estimation des acides nucléiques dans l'extrait perchlorique. 290

C. — Précision des résultats 290

II. — Les quantités d'acides nucléiques présentes dans les feuilles d'*Œnothera biennis* L. pendant la réfrigération 291

A. — Plan des expériences et modes d'expression des résultats 291

B. — Résultats obtenus 292

III. — Comparaison avec l'évolution de la teneur en acides nucléiques des rosettes développées au tiède 296

Considérations générales 299

I. — La diversité des comportements physiologiques d'espèces voisines d'*Œnothera biennis* L. var. *sulfurea* de Vries 299

II. — L'importance des phénomènes périodiques dans les mécanismes liés a la préparation et a la réalisation de la floraison chez *Œnothera biennis* L. var. *sulfurea* de Vries 300

III. — Etat de développement végétatif, croissance et efficacité de la réfrigération vernalisante 302

A. — Phase juvénile et état de développement végétatif 302

B. — Phase adulte et aptitude à la vernalisation 302

C. — Facteurs trophiques et croissance pendant la réfrigération 303

IV. — Les étapes et le déroulement de la vernalisation. L' « état » vernalisé et son expression 304

A. — Préparation à la floraison et préparation à l'élongation 304

B. — La stabilité de l' « état » vernalisé avant le virage vers l'état floral : la dévernalisation 306

Résumé et conclusions 309

Bibliographie 311

INTRODUCTION

L'influence des climats sur la répartition géographique des plantes, les rapports entre les saisons et les cycles de développement des espèces montrent combien la vie végétale est gouvernée par les facteurs de l'environnement.

On parvient maintenant à une connaissance approfondie de l'action du milieu sur la morphologie et la physiologie des plantes supérieures grâce à l'amélioration des techniques expérimentales. En particulier, la réalisation de cultures dans des conditions de plus en plus rigoureusement contrôlées permet d'aborder aisément divers problèmes biologiques complexes : ainsi, l'action déterminante des basses températures hivernales sur l'acquisition de l'aptitude à fleurir — en d'autres termes, le rôle du froid dans la vernalisation — est devenue depuis une quinzaine d'années l'objet de recherches de plus en plus intenses et enrichissantes.

Toutefois, ce n'est que par la connaissance précise du comportement de multiples espèces exigeant ce processus à des degrés divers que l'on peut progresser dans la compréhension de ce phénomène. En effet, de la confrontation de beaucoup de résultats se dégagent les idées générales indispensables à l'intelligence de mécanismes non encore élucidés.

Notre travail se situe dans le cadre de nombreuses analyses de ce genre, toutes dirigées par M. le Pr Chouard et généralement effectuées au Phytotron de Gif-sur-Yvette.

Nous avons choisi, sur le conseil de M. le Pr Chouard, de définir d'une manière aussi complète que possible les caractéristiques écophysiologiques d'une Angiosperme bisannuelle, l'Onagre : *Œnothera biennis* L. Le cycle de développement de cette plante, dans les conditions naturelles, s'étend sur deux années civiles : elle passe l'hiver à l'état de petite rosette et porte fleurs et fruits, l'été suivant, sur une haute tige formée rapidement. Bien que cette plante soit soumise à la fois au déterminisme de la vernalisation et à celui du photopériodisme, c'est principalement à l'analyse de la vernalisation de la rosette que nous nous sommes attachée.

Nous avons d'abord étudié l'aspect qualitatif de son besoin de réfrigération vernalisante pour pouvoir ensuite en déterminer les variations quantitatives. Une fois ces connaissances fondamentales acquises, nous nous sommes orientée vers des expérimentations mettant en jeu l'expression de l'aptitude à fleurir; cela nous a appris quelles parties

de la plante perçoivent l' « effet vernalisant » du froid et dans quelles conditions l' « état » vernalisé reste acquis. L'importance du rôle des substances de croissance et leur participation à ce mécanisme se sont alors trouvées précisées.

L'observation de la morphologie de la plante et l'étude du fonctionnement de son bourgeon terminal au cours de la réfrigération ont été menées parallèlement.

Des résultats acquis nous ont alors poussée à suivre l'évolution de la teneur en acides nucléiques des rosettes pendant cette période déterminante pour le passage ultérieur à l'état reproductif.

L'exposé de ces diverses expériences et de leurs résultats fait l'objet des chapitres successifs de ce mémoire. Enfin, nous dégageons les idées générales qui découlent de ce travail; nous nous efforçons de préciser dans quelle mesure l'étude du cas particulier de cette plante peut apporter une certaine contribution à la connaissance de la vernalisation et nous évoquons les perspectives de recherches nouvelles à partir des données ainsi acquises.

⁂

Avant de commencer à exposer ces recherches, nous tenons à adresser notre gratitude à tous ceux qui nous ont dirigée et aidée.

Nous voulons tout d'abord exprimer notre grand regret de ne plus pouvoir dire, une fois encore, à M. le Pr Combes notre profonde reconnaissance : c'est lui, en effet, qui nous a donné, lors de la préparation d'un diplôme d'études supérieures, les premiers conseils fondamentaux pour la conduite d'une expérimentation. Ensuite, c'est toujours avec une grande bonté qu'il s'est intéressé à l'avancement de notre travail.

C'est M. le Pr Chouard qui nous a suggéré cette étude. Nous lui exprimons ici notre très profonde reconnaissance car il nous a donné, à mainte occasion, la possibilité de profiter de sa grande expérience et de la richesse de ses innombrables observations.

Nous adressons également notre respectueuse gratitude à MM. les Prs Ulrich et Lemée qui ont accepté de faire partie du Jury de cette thèse et d'examiner ce travail.

Nous avons aussi plaisir à remercier vivement M. le Pr Genevès pour l'aide qu'il nous a apportée : c'est grâce à lui que les études histologiques présentées dans ce mémoire ont pu être menées à bien et ses conseils nous ont été fort précieux pour l'interprétation de nos résultats en ce domaine.

M. le Pr Heller nous a permis, en maintes circonstances, d'utiliser diverses installations de son laboratoire. Nous lui exprimons ici toute notre respectueuse reconnaissance.

Nous sommes heureuse de pouvoir remercier également, à cette occasion, tous nos collègues et amis du laboratoire de la Sorbonne et du Phytotron, ainsi que les membres du personnel dont le dévouement et la gentillesse ont grandement facilité notre travail.

HISTORIQUE

Des observations anciennes ont révélé le rôle important de la saison hivernale dans le développement des végétaux qui peuplent les pays à climats tempérés : ce fait a d'abord retenu l'attention toute spéciale des agriculteurs et agronomes, car il concerne le cycle de vie de plantes de grand intérêt économique, telles que les céréales d'hiver.

Dès 1857, Klippart [35] a fait connaître le rôle prépondérant du facteur température dans l'action complexe de la saison hivernale. A partir de ce moment, les observations sur ce sujet et les travaux scientifiques dans ce domaine se sont multipliés et ont rayonné dans les différentes voies possibles : d'une part, enquêtes sur l'importance des basses températures pour la reproduction de nombreuses plantes supérieures; d'autre part, analyses tendant à préciser et à permettre de comprendre les mécanismes physiologiques en cause. Au premier type de recherches se rattache notamment une grande part de l'œuvre de Gassner [21] et, au second, une fraction des travaux effectués par Lyssenko [56]; c'est lui qui, en 1929, donna le nom de « jarovisation » (c'est-à-dire « vernalisation » si l'on écrit en employant les racines latines) à « la méthode de traitement appliquée aux semences de céréales d'hiver destinées à être semées au printemps ».

Depuis, beaucoup de chercheurs ont participé à l'étude de ce problème biologique important. Cela a donné lieu à des publications si nombreuses que de vastes « mises au point » ont été périodiquement rédigées en diverses langues. Nous n'avons pas l'intention d'écrire ici une « histoire » chronologique de l'acquisition des connaissances et de l'évolution des idées sur cette matière. L'ouvrage que Murneek et Whyte [61] ont consacré à ce sujet en 1948, et les synthèses plus récentes écrites par Chouard en 1949 [8], puis surtout en 1960 [14] et 1962 [16], ainsi que par Purvis [68] et Napp-Zinn [64] en 1961, permettent de suivre étape par étape les découvertes faites et les progrès réalisés dans ce domaine. Nous voulons seulement donner ici un bref aperçu des connaissances acquises lors du début de nos recherches pour montrer comment nous avons pu aborder l'étude du comportement de la plante choisie (*Œnothera biennis* L.) et pour faire sentir quelles idées directrices ont animé ce travail. C'est pourquoi nous insisterons tout spécialement sur la vernalisation des plantes bisannuelles en rosette que l'on pouvait supposer être du même type que l'Onagre bisannuelle. Nous ne manquerons pas non plus de montrer ce que des travaux menés en même temps que les nôtres, mais déjà publiés, peuvent fournir comme matière de comparaison avec les résultats rassemblés dans ce mémoire.

I. — L'IMPORTANCE DE LA VERNALISATION POUR LA REPRODUCTION DES PLANTES DE PAYS TEMPÉRÉS

Il faut d'abord préciser le sens exact que nous donnons au mot « vernalisation » car, depuis le travail de Lyssenko, de nombreux auteurs l'ont employé dans un sens plus ou moins étendu. Comme Wellensiek [84, 88] et Chouard [14] le proposent, nous appelons ainsi le mécanisme permettant aux plantes d'acquérir, sous l'effet des basses températures, l'aptitude à former ultérieurement leurs fleurs. Avec le dernier auteur cité, nous désignons par « réfrigération vernalisante » le traitement lui-même auquel les plantes doivent être soumises. Car une réfrigération n'entraîne pas nécessairement, loin de là, la vernalisation, même celle d'une espèce vernalisable. Il faut donc distinguer le traitement physique et le processus biologique nous intéressant ici, la vernalisation, auquel il peut conduire.

C'est donc à propos de plantes bisannuelles, les céréales d'hiver, que les premières recherches sur la vernalisation ont été accomplies : Lyssenko avait surtout étudié le Blé d'hiver mais, à partir de 1936, une équipe de chercheurs, dirigée par Gregory puis Purvis, a analysé d'une manière très approfondie le comportement du Seigle d'hiver cultivar. « Petkus » [22, 23].

Les recherches se sont ensuite étendues aux cas d'autres plantes bisannuelles : en 1947, Melchers et Lang [47] ont montré comment la floraison d'une plante en rosette, la Jusquiame noire de race bisannuelle, nécessite également l'action préalable des basses températures.

Les multiples observations faites par Chouard [9, 11] ont donné une idée de la diversité et du grand nombre des plantes bisannuelles qui exigent plus ou moins une période de vie au froid pour pouvoir se reproduire ultérieurement. C'est en particulier à l'occasion de ce travail que cet auteur signale le besoin de vernalisation d'*Œnothera biennis* L. A ces recherches, s'ajoutent celles de Wellensiek sur *Campanula Medium* [86] et *Lunaria biennis* [85], celles de Kruzhiline [38], Chroboczek [18] puis Margara [57] sur le déterminisme de la floraison de plantes offrant un certain intérêt économique (Carottes, Céleris, Betteraves). Tous ces travaux concourent à montrer la plus ou moins grande nécessité d'une certaine durée d'exposition aux basses températures pour la mise à fleur ultérieure.

L'ensemble de ces résultats pouvait laisser supposer l'existence d'une relation de cause à effet entre le besoin de vernalisation, d'une part, et le caractère monocarpique des plantes, d'autre part. C'est encore principalement aux travaux de Chouard [10], puis à ceux de ses élèves sur *Geum urbanum* (Weber [83], Lé [51], Chouard et M^me^ Tran

Thanh Van [17]), *Scrofularia alata* (Larrieu [50]), *Teucrium Scorodonia* (Jouglard [29]), ainsi qu'aux recherches de Schwabe [73, 74, 75, 76, 77], Vince [80] et Doorenbos [19] sur *Chrysanthemum morifolium*, que l'on doit d'avoir étendu le problème au cas des plantes vivaces. C'est grâce à des analyses de ce genre que l'on peut maintenant expliquer comment l'action du froid n'implique pas nécessairement la mise à fleur inéluctable de tous les bourgeons présents durant la réfrigération. Ainsi, on parvient à savoir comment les plantes pérennes, exigeant la vernalisation, peuvent survivre à une floraison suivie de fructification et sont, de ce fait, polycarpiques.

L'évocation rapide de ces multiples résultats donne un aperçu de l'importance de la vernalisation comme mécanisme de la mise à fleur de nombreuses et diverses Angiospermes : plantes bisannuelles de même que plantes vivaces, végétaux herbacés aussi bien que plantes ligneuses, espèces en rosette ainsi que plantes caulescentes...

II. — VUE D'ENSEMBLE SUR LES CIRCONSTANCES ET LES MODALITÉS DE LA VERNALISATION

Les plantes étudiées jusqu'à maintenant présentent des exigences diverses de réfrigération : il existe des degrés dans les besoins quantitatifs de froid nécessaire pour que la mise à fleur puisse ensuite se faire. Gregory et Purvis [69] ont montré que, chez les céréales d'hiver, le besoin de vernalisation est grand mais non absolu, c'est-à-dire qu'après un assez long délai de vie au tiède, les plantes finissent par monter et épier. Par contre, chez les bisannuelles en rosette, une exposition d'une certaine durée aux basses températures est, en général, absolument nécessaire à la reproduction des plantes : ainsi, Melchers et Lang ont montré que tel était le cas de la Jusquiame noire de race bisannuelle [41].

Les espèces qui ne manifestent pas un besoin de froid absolu, mais dont la floraison est seulement hâtée par une exposition préalable aux basses températures, sont souvent vernalisables dès la fin de la germination : c'est le cas des céréales. Des observations faites par Kostjucenko et Zarubailo [36] ainsi que des expériences de Gregory et Purvis [25] ont même montré, en 1937, que l'embryon immature des céréales d'hiver pouvait être vernalisé sur la plante-mère. Par contre, Melchers et Lang n'ont pu vernaliser la Jusquiame noire bisannuelle qu'à l'état de petite rosette [47]. Tandis qu'*Arabidopsis Thaliana* cultivar. « Stockholm » [63], *Cichorium Intybus* [27] et certaines Betteraves sont, comme les céréales, sensibles à la réfrigération vernalisante à l'état de semences humides, *Campanula Medium* [86], *Geum urbanum* [83], *Teucrium Scorodonia* [29] se comportent sur ce point comme la Jusquiame. On peut donc, dans ces derniers cas, parler, en reprenant les termes de Wellensiek, d'une « période juvénile » pen-

dant laquelle la plante est incapable de percevoir le « stimulus » de vernalisation, et d'une « phase adulte » pendant laquelle la plante est sensible à l'action vernalisante des basses températures. Chouard appelle « maturité de vernalisation » le moment où la plante passe de l'état juvénile à l'état adulte, autrement dit, devient « vernalisable ». Une fois l'état adulte atteint, l'aptitude à la vernalisation augmente, dans la plupart des cas, avec l'âge de la plante (Betterave, Jusquiame noire); elle peut aussi, dans d'autres cas, subir diverses fluctuations comme celles que Napp-Zinn a étudiées chez *Arabidopsis Thaliana* [62].

Les modalités du déroulement de la réfrigération vernalisante se sont trouvées précisées peu à peu; elles se résument ainsi :

— Une humidité convenable et la présence d'oxygène sont indispensables au déroulement de la vernalisation.

— Les températures efficaces sont, en général, comprises entre 0° C et +10° C; la température optimale est souvent voisine de +3° C à 5° C pour les céréales (Gregory et Purvis, Lyssenko, Séchet [78]). Elle peut être plus élevée pour d'autres plantes : par exemple, elle est comprise entre +6° C et +9° C pour *Beta vulgaris* selon les résultats obtenus par Stout [79].

— Gregory et Purvis ont prouvé que la réfrigération pouvait être interrompue par des séjours à des températures dites « neutres » (voisines, pour les céréales étudiées par ces auteurs, de +12° C); on a donc dit que, dans ce cas, l'effet était « cumulatif ». Par contre, les mêmes auteurs ont montré que si les semences sont exposées, dès la fin de la réfrigération, à des températures élevées mais non létales (35° C), l'action des basses températures est annihilée : il se produit la « dévernalisation » des semences réfrigérées et une re-vernalisation est possible et nécessaire pour aboutir à une prompte floraison. Néanmoins, l' « état » vernalisé devient « fixé » si, dès la fin de la réfrigération, les céréales sont maintenues à une température neutre pendant un certain temps; la dévernalisation par les hautes températures n'est alors plus possible [24, 70]. Des faits semblables ont été observés dans d'autres cas : chez la Jusquiame, par Melchers et Lang [47]; chez *Dianthus barbatus,* par Waterschoot [82].

C'est en étudiant le comportement de plantes bisannuelles exigeant des conditions de journées longues pour exprimer leur aptitude à la floraison acquise par la vernalisation, que des chercheurs de l'équipe dirigée par Chouard ont mis en évidence un autre mode de dévernalisation. Dès 1960, cet auteur [14] a cité de nombreuses expériences, réalisées par son groupe de collaborateurs, montrant que la journée courte dévernalise certaines espèces : ainsi Margara [57] a pu dévernaliser totalement des Betteraves exposées dès la fin de la réfrigération à des photopériodes courtes; après avoir été soumises à 40 photopériodes courtes, les plantes préalablement vernalisées, sont restées à l'état végétatif lorsqu'on les a enfin placées en conditions eupériodiques. Wellensiek et Barendse [1], en 1962, ont retrouvé un phénomène analogue chez *Cheiranthus Allionii.*

Les expériences de Gregory et Purvis [66] ont mis en évidence le lieu de perception du stimulus de vernalisation chez le Seigle : il s'agit du point végétatif, et ces auteurs ont pu réussir la vernalisation d'embryons isolés pourvu que ceux-ci se trouvent sur un milieu riche en glucides. Kruzhiline et Shvedskaja ont vernalisé des bourgeons isolés de Carotte cultivés sur un milieu nutritif contenant du saccharose [37]. Enfin, Wellensiek est parvenu à vernaliser des feuilles isolées prélevées sur des Lunaires bisannuelles parvenues à l'âge adulte [87].

La confrontation de tous ces faits expérimentaux a incité les chercheurs à donner des schémas d'interprétation du processus de vernalisation, et ces hypothèses ont conduit à des essais d'analyse physiologique des réactions se déroulant pendant l'exposition au froid. Les progrès effectués parallèlement dans le domaine de la connaissance des phyto-hormones ont permis de rechercher dans quelle mesure un mécanisme hormonal, ou l'intervention de substances de croissance particulières participerait à l'acquisition de l'aptitude à fleurir lors de la réfrigération vernalisante.

III. — LE RÔLE ÉVENTUEL DE SUBSTANCES DE TYPE HORMONAL DANS LA VERNALISATION

En 1936, Melchers et Lang ont réussi à transmettre l'état vernalisé en greffant par approche une Jusquiame noire de race bisannuelle vernalisée à une plante identique non vernalisée; ils ont même pu provoquer la floraison d'une plante bisannuelle non vernalisée par greffage d'une plante voisine : *Petunia* et *Solanum tuberosum* [58, 59]. Ils ont alors conclu qu'il se formait, pendant l'action des basses températures, une substance hormonale transmissible, la « vernaline ».

De nombreuses autres expériences de ce type, tendant à transmettre par greffage l' « état » vernalisé, ont été réalisées depuis : Stout [79] a obtenu des résultats identiques à ceux de Melchers avec la Betterave. Par contre, Zeevaart [91, 92], effectuant de très nombreux essais (en particulier avec la Giroflée *Cheiranthus Cheiri*), n'est pas parvenu à généraliser l'idée de Melchers.

En 1939, la découverte et l'isolement, par Yabuta et Hayashi [90], des gibbérellines d'origine fongique actives sur des Phanérogames ont ouvert une voie nouvelle d'expérimentation. L'extraction de substances de croissance de ce type à partir de plantes supérieures (West et Phinney [89]) a facilité et permis de compléter les recherches dans ce domaine. Lang s'est alors attaché à l'étude du rôle physiologique des gibbérellines et, en particulier, à celle de leur action dans la mise à fleur : il a pu ainsi, en traitant des plantes bisannuelles par l'acide gibbérellique (GA_3), d'une part [42, 43, 44, 45, 46], et par des subtances de type gibbérelline extraites de plantes supérieures [48],

d'autre part, faire fleurir des plantes en rosettes non vernalisées : *Hyoscyamus niger* de race bisannuelle, *Daucus Carota*... En même temps, Chouard faisait fleurir, sans réfrigération, par la seule action de la gibbérelline, *Digitalis purpurea*, *Œnothera lamarckiana*, etc. [12, 13]. Par contre, Wellensiek n'a réussi à obtenir un allongement de la tige de la Lunaire non réfrigérée qu'en appliquant de très fortes doses d'acide gibbérellique, et les plantes traitées n'ont pas formé de fleurs [85]. Chez le Seigle d'hiver cultivar. « Petkus », Purvis n'a pas pu provoquer l'initiation florale par traitement par la gibbérelline [67]. Harada et Nitsch, eux, ont pu faire fleurir, en l'absence de réfrigération, par traitement par de l'acide gibbérellique, un Chrysanthème exigeant la vernalisation (*Chrysanthemum morifolium* cultivar. « Suokan »). Ils sont même parvenus à extraire d'un Chrysanthème vernalisé une substance E capable de provoquer la floraison de plantes témoins non réfrigérées [26].

Comprenant que la gibbérelline ne pouvait pas toujours remplacer le froid dans la totalité de son action vernalisante, Chouard s'est alors attaché à utiliser cette substance comme moyen d'analyse du déroulement de la vernalisation [12, 15]. Plusieurs de ses collaborateurs se sont orientés vers l'étude des combinaisons quantitatives de traitements par les basses températures et par la gibbérelline : c'est principalement chez *Scrofularia alata* (Larrieu [50]) que l'on a pu montrer que des doses convenables de gibbérelline, incapables de provoquer la floraison, permettent de réduire la durée de réfrigération nécessaire à la vernalisation. Ainsi, Chouard a conclu que la gibbérelline n'agit qu'indirectement sur la mise à fleur en levant la brachyblastie des plantes en rosette chez lesquelles la réfrigération, elle, produit un double effet : acquisition de l'aptitude à fleurir et préparation à l'élongation de la tige.

⁂

Lorsque nous avons commencé l'étude de la vernalisation d'*Œnothera biennis* L., on reconnaissait donc, chez les plantes bisannuelles, deux types principaux de comportement [88] :

— le « type céréale » : besoin de vernalisation non absolu mais grand, pas de phase juvénile, port en rosette puis plante caulescente, exigence de journées longues pour l'initiation florale;

— et le « type Jusquiame » : besoin de vernalisation absolu, existence d'une phase juvénile, port en rosette avant la réalisation de la mise à fleur, exigence absolue de journées longues pour l'initiation florale.

C'est à ce dernier type que l'Onagre bisannuelle semblait se rattacher. Notre travail était, de la sorte, susceptible de montrer jusqu'où on pouvait pousser la comparaison entre le comportement de cette plante et celui de la Jusquiame noire. L'analyse, aussi précise que possible des circonstances de la vernalisation du matériel choisi, allait peut-être attirer l'attention sur quelques différences intéressantes pour la connaissance générale de ce processus.

LE MATÉRIEL VÉGÉTAL ET LES TECHNIQUES DE CULTURE

I. — PRÉSENTATION DU MATÉRIEL VÉGÉTAL

A. — L'ESPÈCE CHOISIE

Nos premières expériences, en 1956, ont été effectuées avec des plantes provenant de semences récoltées dans la région parisienne. En particulier, certains essais ont été faits avec des Onagres originaires de la forêt de Fontainebleau. Les résultats obtenus furent si variables qu'il nous fut impossible d'en tirer une conclusion valable, si ce n'est que nous étions en présence de populations diverses. Celles-ci étaient vraisemblablement constituées par des espèces voisines offrant, au moins à l'état de rosettes, un aspect plus ou moins identique mais présentant des comportements physiologiques différents.

Ces difficultés nous ont conduite à utiliser, sur le conseil du Pr Linder, des graines provenant du Jardin botanique de Münich; elles avaient été récoltées sur des plantes autofécondées issues de la collection du grand spécialiste Renner. Les plantes ainsi obtenues correspondent à la description que Linder [53] donne d'*Œnothera biennis* L. var. *sulfurea* de Vries. C'est sur ce matériel et sur sa descendance que toutes les expériences ultérieurement citées ont été effectuées.

Comme la classification de Linder précise essentiellement ce qui distingue cette espèce des autres et qu'il s'agit surtout de caractères de plantes en fleurs, nous estimons utile de donner ici une rapide description de l'Onagre étudiée.

B. — LA MORPHOLOGIE DE LA PLANTE ET SON CYCLE DE VIE DANS LA NATURE

Cette plante herbacée, appartenant à la famille des Onagracées (ordre des Myrtales, classe des Dicotylédones), présente successivement, au cours de sa vie dans les conditions naturelles, deux aspects caractéristiques :

— après la germination, à l'automne et pendant tout l'hiver, la plante forme une petite rosette de feuilles simples, plus ou moins

étalées sur le sol; les parties souterraines sont alors constituées par une assez grosse racine en pivot;

— à la belle saison de l'année suivante, vers le mois de juin, le port de la plante change brusquement : une tige feuillée se développe assez rapidement au cœur de la rosette; sur cet axe qui atteint et peut même dépasser 1 mètre de hauteur, les feuilles présentent une disposition alterne.

Fig. 1. — Les deux aspects d'*Œnothera biennis* L. var. *sulfurea* de Vries : à gauche, plante à l'état végétatif; à droite, plante fleurie.

La longueur de leur pétiole diminue progressivement vers le haut de la tige. Celle-ci se termine par une inflorescence unique à sommet érigé. Il s'agit d'un épi allongé (souvent une vingtaine de centimètres) de fleurs jaune soufre disposées chacune à l'aisselle d'une bractée. Les sépales forment un long tube divisé en 4 lobes au sommet. Les 4 pétales échancrés (de 25 à 28 mm de longueur) restent jaunes en fanant. Chaque fleur possède 8 étamines et un ovaire adhérant au calice, prolongé par un style à 4 stigmates. Les fruits sont des capsules à 4 loges contenant un très grand nombre de petites graines polyédriques.

Après cette unique floraison suivie de fructification, les parties aériennes se dessèchent et, la souche souterraine étant alors totalement vidée de ses réserves, la plante ne tarde pas à périr. Il s'agit donc typiquement d'une plante bisannuelle monocarpique. La figure 1 permet de comparer les deux aspects de cette plante.

C. — SON HABITAT ET SON AIRE DE RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE

Œnothera biennis L., comme toutes les Onagres subspontanées en Europe occidentale, est originaire d'Amérique du Nord; elle pousse spontanément sur les talus, les terrains vagues; on la trouve aussi en bordure des bois. En Europe, Linder signale sa présence en Alsace [54, 55], mais on la rencontre principalement en Allemagne;

néanmoins, Kappus [31, 32], qui a beaucoup contribué à la connaissance de la répartition géographique de cette plante, précise que la variété *sulfurea* est rare.

Nous n'avons jamais trouvé cette variété dans la région parisienne où, par contre, abonde *Œnothera lamarckiana* Ser. : celle-ci est d'ailleurs souvent désignée (lorsqu'on s'en tient à la description très générale donnée par les flores usuelles) comme « *Œnothera biennis* L. », ce qui peut prêter à confusion.

II. — TECHNIQUES DE CULTURE DES PLANTES

A. — LES DIFFÉRENTS TYPES DE CULTURES

Presque toutes les plantes ont été cultivées en terre.

Cependant, pour voir si notre matériel se comportait de la même manière que d'autres espèces étudiées au Phytotron de Gif-sur-Yvette, nous avons dû réaliser quelques cultures sur milieu nutritif. Nous indiquerons donc brièvement ici les divers substrats et milieux utilisés.

1° Cultures en pots.

Les semis ont été effectués en terrines, dans un mélange de « terreau » et de « terre franche » dans les proportions de 2 à 1. Les repiquages ont été faits dans des godets de 6 cm de diamètre, lorsque les jeunes plantes avaient 2 à 3 petites feuilles en plus des cotylédons. A chaque fois que leur croissance l'a nécessité, les plantes ont été rempotées dans des pots de diamètre supérieur (8 cm, puis 14 cm, puis 16 cm). Dans chaque cas, nous ne placions qu'une seule plante par pot.

2° Cultures sur milieu nutritif.

a) *Le milieu utilisé : sa composition, son pH.* — Contrairement à ce qui est réalisé au Phytotron, nous n'avons pas fait ces cultures sur vermiculite et laine de verre; nous avons utilisé la technique d'aquiculture au sens strict.

Les plantes, préalablement repiquées en terre après leur germination, ont été placées sur le milieu nutritif dont la composition figure dans le tableau I (1).

Le pH de ce milieu tamponné était égal à 5,65. Lors du renouvellement du milieu (tous les deux jours), la stabilité du pH était contrôlée.

(1) Cette formule nous a été conseillée par M^lle^ D. Scheidecker à laquelle nous exprimons ici notre reconnaissance.

b) *Les récipients de culture.* — Les plantes, d'abord placées dans des vases cylindriques de 600 ml, ont été transférées, dès que leur croissance l'a nécessité, dans des récipients à large ouverture, de capacité égale à 1 litre. Pour finir, elles ont été placées dans des pots en matière plastique pouvant contenir 3,500 l de solution nutritive.

Dans tous les cas, les parois des récipients utilisés étaient opaques et noires. Ainsi était évitée la prolifération d'Algues vertes dans les cultures.

Tableau I. — Composition du milieu nutritif

Macro-éléments	
Sels	Quantités (g/l)
SO_4Mg, 7 H_2O	0,544
$SO_4(NH_4)_2$	0,086
PO_4H_2K	0,181
PO_4HK_2	0,058
$PO_4H_2NH_4$	0,059
NO_3K	0,353
NO_3NH_4	0,023
$(NO_3)_2Ca$, 4 H_2O	0,953
Oligo-éléments	
Eléments	Quantités (p.p.m.)
Mn	0,50
Cu	0,04
Zn	0,05
B	0,50
Mo	0,02
Fe (*)	6

(*) Le fer était ajouté à la solution nutritive sous forme de chélat (l'agent chélateur étant l'E. D. T. A.)

c) *L'aération du milieu de culture.* — Elle a été obtenue grâce à l'emploi de petits compresseurs « Belbul » spécialement conçus pour l'aération des aquariums.

La figure 2 montre un tel dispositif de culture.

B. — LES CONDITIONS DE VIE DES PLANTES

1° En serre.

a) *La température.* — Pendant toute la mauvaise saison, la serre était chauffée, de sorte que la température n'était jamais inférieure à 16° C.

Fig. 2. — Plante en aquiculture.

En été, pendant les périodes chaudes, la température était en général comprise entre 18 et 20° C pendant la nuit, et entre 22 et 25-27° C le jour.

b) *L'humidité.* — En général, les plantes en pots étaient arrosées une fois par jour — le matin —, deux fois pendant les journées chaudes de l'été et, dans ce cas, un arrosage permanent du sol pendant la journée évitait une trop grande baisse de l'humidité relative dans la serre.

Ainsi l'humidité relative de l'air était comprise entre 50 et 65 à 70 %.

A titre indicatif, les figures 3 et 4 donnent un aperçu des conditions thermiques et hygrométriques réalisées en serre, en hiver (au mois de janvier), d'une part, et en été (au mois de juin), d'autre part.

c) *L'éclairement.* — Les plantes en serre recevaient la lumière solaire naturelle. De plus, elles pouvaient toujours disposer d'un éclairement suffisant, même pendant des journées peu ensoleillées, car la serre était équipée de plafonds lumineux constitués de tubes fluorescents et de lampes à incandescence, disposés de la manière suivante : 1 tube Mazdafluor « blanc soleil de luxe » 40 W, 1 micatube 40 W, 1 tube Mazdafluor « lumière du jour » 40 W, 1 micatube 40 W. Ainsi, au niveau des plantes, l'éclairement était compris entre 90 000 ergs/cm²/s (par temps gris) et 360 000 ergs/cm²/s (lors de forte insolation), c'est-à-dire approximativement entre 22 500 et 90 000 lux.

d) *Les conditions photopériodiques.* — En serre, nous avons pu utiliser deux types de conditions photopériodiques grâce au jeu d'horloges électriques commandant l'éclairage artificiel et de dispositifs

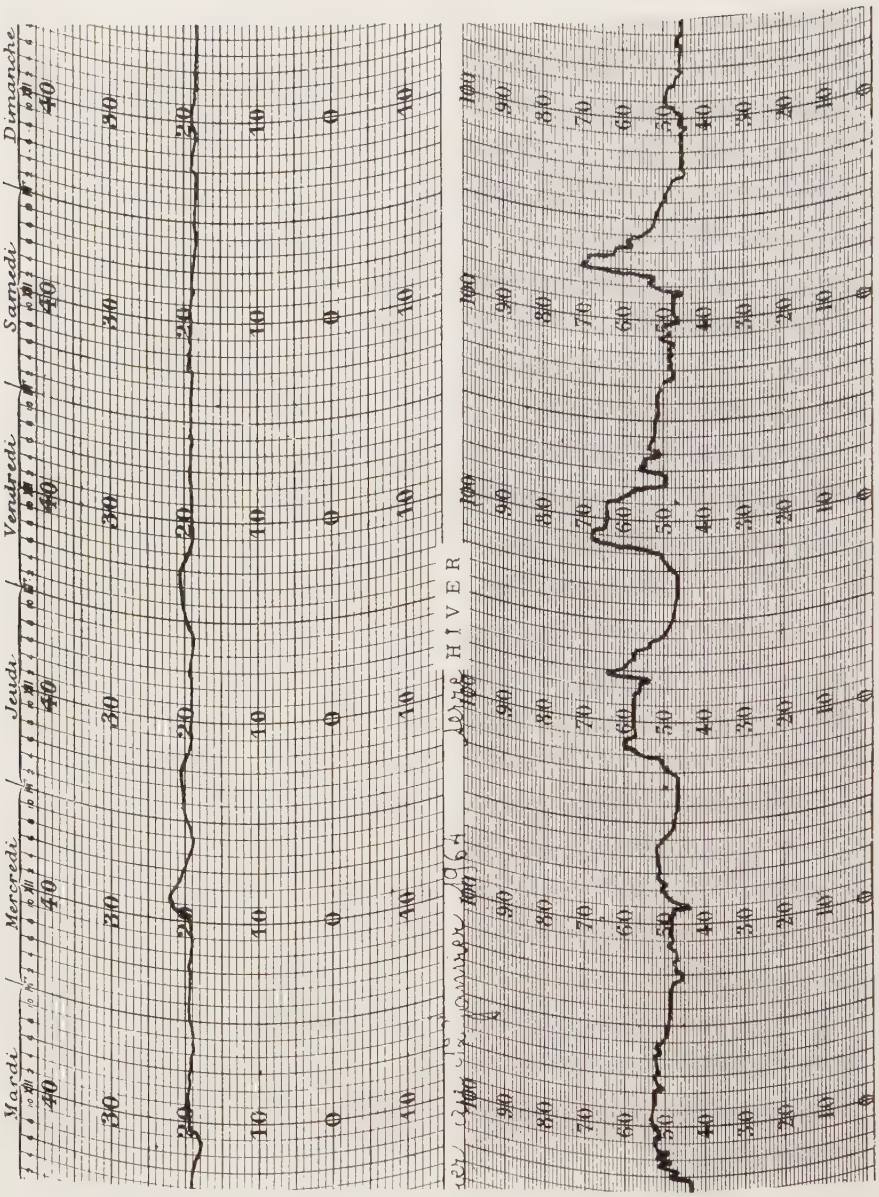


Fig. 3. Conditions thermiques et hygrométriques réalisées dans la serre en hiver (au mois de janvier).

d'obscurcissement (rideaux de tissu noir doublé de blanc pouvant être rabattus ou relevés à des heures précises) :

— *des journées longues :* les plantes étaient alors éclairées pendant 16 heures par 24 heures, de 5 heures à 21 heures. Cette durée de jour a été choisie car elle nous a semblé la plus favorable à la croissance des plantes;

— *des journées courtes :* les plantes n'étaient alors éclairées que pendant 8 heures par 24 heures, de 9 heures à 17 heures.

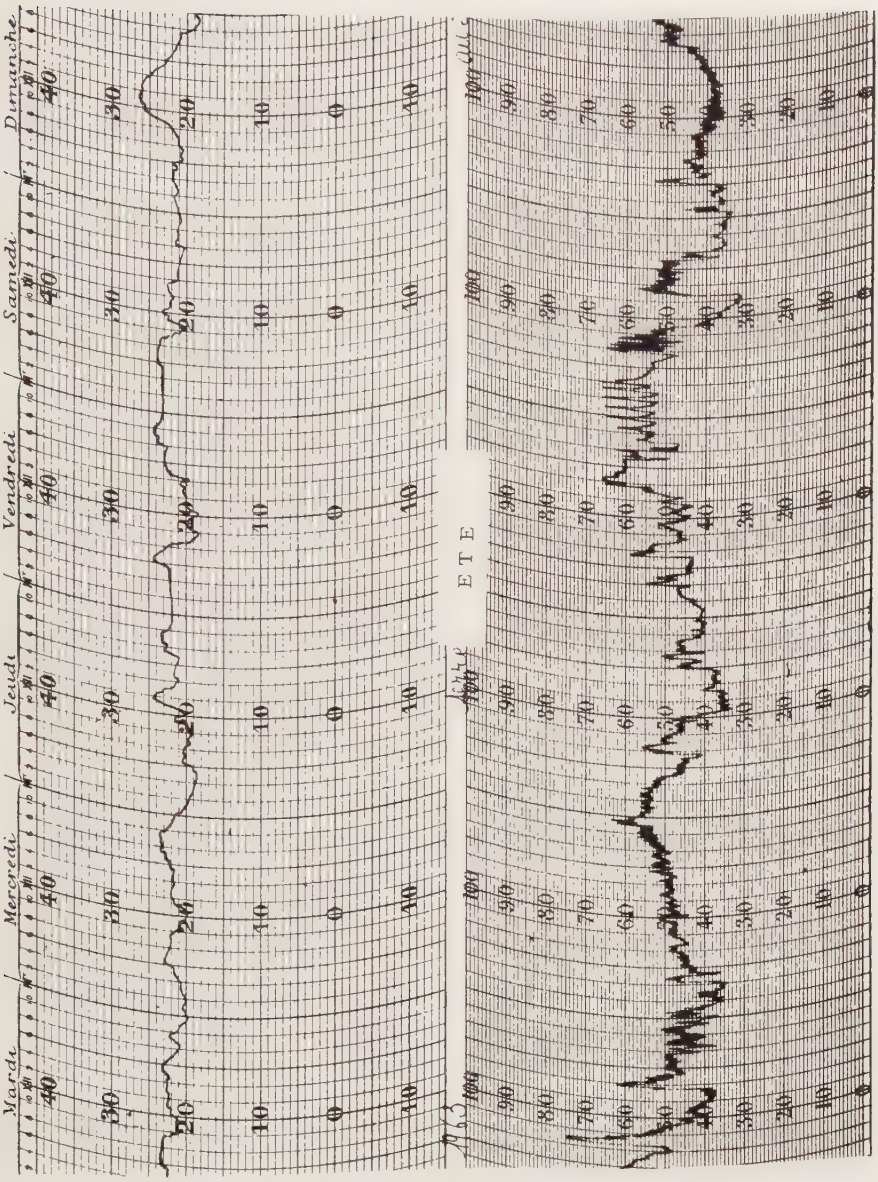


FIG. 4. — Conditions thermiques et hygrométriques réalisées dans la serre en été (au mois de juin).

2° *En chambre froide.*

1° Expériences préliminaires. — Nous avons tout d'abord effectué des essais au laboratoire du Phytotron, à Gif-sur-Yvette :

— Les premières expériences de vernalisation ont été réalisées dans une chambre froide réglée, au degré près, à +3° C et éclairée, pendant 8 heures par 24 heures, par des tubes Mazdafluor « blanc soleil de

luxe » 40 W fournissant au niveau des feuilles des rosettes un éclairement d'environ 16 500 ergs/cm²/s.

— Nous avons ensuite pu faire des essais d'action des alternances de températures en plaçant des plantes dans les premières serres réfrigérées du C. N. R. S., à Gif-sur-Yvette, ce qui permettait une vernalisation dans des conditions d'éclairement naturel. Les températures régnant dans les différentes serres froides utilisées étaient +3° C dans un cas, +7° C dans un autre, +13° C dans le troisième cas.

2° ***Expériences ultérieures.*** — Ces premiers essais ont permis de préciser certaines exigences propres au matériel choisi. Cela nous a imposé un aménagement spécial de la chambre froide utilisée pour toutes les recherches ultérieures à Paris.

a) *Les conditions de température.* — Toutes les 12 heures, une commande électrique automatique faisait varier la température de la chambre froide. Les deux températures ainsi obtenues alternativement étaient +3° C (±0,5° C) et +11° C (±0,5° C). Pour que la température s'élève de +3° C à +11° C, il fallait en général 35 minutes, alors que le passage de +11° C à +3° C nécessitait environ 2 heures et demie.

Les heures choisies pour le début des changements de température étaient 7 et 19 heures. Afin de nous rapprocher le plus possible des conditions naturelles, la température la plus basse a été donnée, dans le plus grand nombre d'expériences, pendant la période nocturne, le léger réchauffement ayant lieu dans la journée. Mais il nous est arrivé d'utiliser le rythme inverse d'alternance quotidienne de températures.

b) *L'humidité.* — Les plantes étaient arrosées deux fois par semaine. L'humidité relative de l'air était, en général, comprise entre 50 et 60 %.

La figure 5 rend compte des conditions thermiques et hygrométriques réalisées dans cette chambre froide.

c) *L'éclairement.* — La chambre froide était située dans une ancienne serre, et une des parois verticales de ce meuble était constituée par un double vitrage, si bien que les plantes recevaient latéralement la lumière du jour. Pour cette raison, nous devions effectuer tous les deux jours un déplacement des pots par rapport à cette fenêtre.

De plus, chaque compartiment était éclairé par un plafond lumineux de 4 tubes Mazdafluor « blanc soleil de luxe » (40 W) par m². Au niveau des feuilles des rosettes, l'éclairement moyen ainsi obtenu était égal à 31 500 ergs/cm²/s.

d) *Les conditions photopériodiques.* — Un compartiment de cette armoire réfrigérée était éclairé de 9 à 17 heures (conditions de journées courtes); dans un autre, les plantes pouvaient être exposées à des journées longues de 5 à 21 heures.

Il importe de préciser que, pour toutes les expériences réalisées en chambre froide, les pots étaient simplement placés sur des tablettes et non enfouis dans des caissettes de terre (cette dernière technique aurait permis une protection des racines plus semblable à celle qui est réalisée en pleine terre, mais, dans le cas présent, elle représentait une trop grande surcharge des tablettes de la chambre froide).

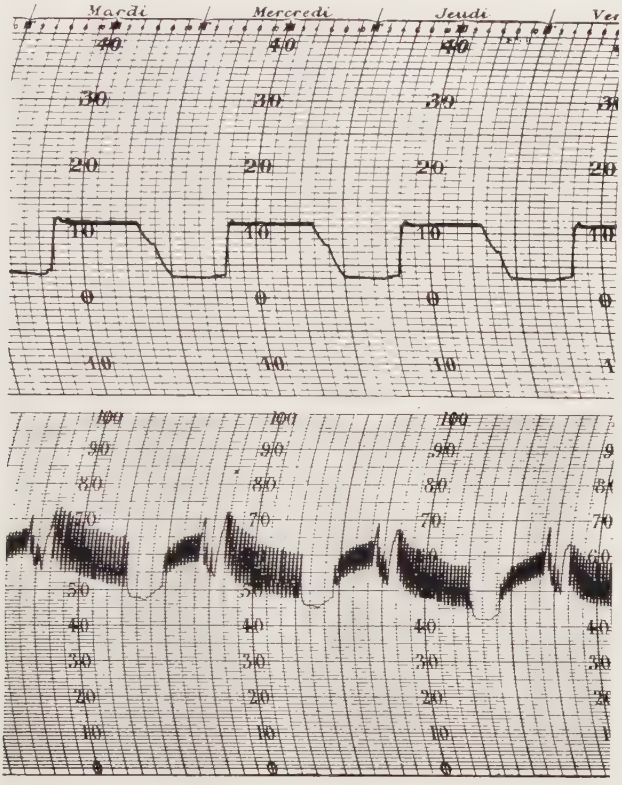


Fig. 5. — Variations des conditions thermiques et hygrométriques en chambre froide.

3° *Dans les conditions naturelles.*

A titre de comparaison, nous avons observé le comportement de quelques plantes provenant de graines de Münich, cultivées en pleine terre, dans un jardin de la région parisienne, et celui de quelques individus en pots exposés au froid hivernal à Gif et à Paris. Dans ces deux derniers cas, les pots avaient été enterrés ou enfouis dans des caissettes de terre placées sur un balcon au laboratoire de la Sorbonne. Des thermomètres enregistreurs ont alors précisé les conditions de température auxquelles les plantes se sont ainsi trouvées soumises.

C. — L'OBSERVATION DES PLANTES AU COURS DE LEUR DÉVELOPPEMENT

La croissance des plantes, dans les diverses conditions, a toujours été suivie d'une manière régulière : les feuilles étaient comptées, la date de leur apparition notée; la dernière feuille formée était repérée à l'aide d'une petite bague passée autour de son pétiole lorsque celui-ci atteignait 2 à 3 cm de longueur.

Cela nous a permis de connaître avec précision ce que Chouard appelle l' « âge » ou « stade morphologique » des plantes, beaucoup plus significatif que l'âge chronologique, car il caractérise mieux que ce dernier l'état de croissance à un moment donné.

⁂

D'autres techniques de cultures (par exemple, celles des cultures aseptiques de bourgeons terminaux isolés) ont été utilisées dans ce travail. Toutefois, comme leur emploi s'est trouvé limité à tel ou tel type d'expérience, nous avons jugé préférable de reporter leur brève description au début des chapitres correspondants. Nous ferons de même pour ce qui concerne les techniques biochimiques et les études histologiques.

CHAPITRE PREMIER

CARACTÉRISTIQUES ÉCOPHYSIOLOGIQUES DE LA VERNALISATION D'*ŒNOTHERA BIENNIS* L.

Ce premier chapitre de résultats sera consacré à l'étude des exigences de réfrigération propres à notre matériel. Nous donnerons ensuite une description des transformations morphologiques subies par la plante pendant sa vernalisation.

Il convient d'analyser successivement les deux aspects du besoin de froid chez cette plante bisannuelle :

— d'abord l'*aspect qualitatif* : pour cela, nous rechercherons si le froid est ou non absolument indispensable à l'acquisition de l'aptitude à fleurir et nous préciserons les températures efficaces pour ce processus;

— puis son *aspect quantitatif* : nous essaierons alors de déterminer les relations possibles entre la durée minimale de réfrigération nécessaire, l'état de développement et les conditions de vie antérieures des plantes.

⁂

L'appréciation du résultat des expériences faites sur un tel sujet implique nécessairement la connaissance des conditions indispensables à l'expression de la floraison. Nous ne nous sommes pas attachée à une étude approfondie du photopériodisme chez *Œnothera biennis* L. Nous savions, grâce aux observations faites par Chouard sur les Onagres de la région parisienne [9], que ces plantes exigent des journées longues pour fleurir. Nous avons cherché, au début de ce travail, s'il en était bien de même pour notre matériel. Des essais de détermination de la photopériode critique ont été effectués à Gif sur des plantes exposées au froid hivernal puis rentrées en serre dans de petites cases où elles recevaient 8 heures de lumière naturelle par 24 heures et un complément éventuel fourni par des lampes à incandescence de 25 W.

Cinq lots de 8 plantes vernalisées par le froid de l'hiver ont ainsi été exposés à des photopériodes respectivement égales à 8, 10, 12, 14 et 16 heures par 24 heures. Et un lot identique a été soumis à un éclai-

rement continu. Toutes les plantes placées dans les trois dernières conditions ont fleuri au bout d'un mois, tandis que les autres sont toujours restées en rosettes comme les témoins non réfrigérés.

Nous en avons donc conclu qu'*Œnothera biennis* L. var. *sulfurea* exigeait, comme les Onagres de la région parisienne, des journées longues pour former ses fleurs et que sa photopériode critique était comprise entre 12 et 14 heures.

Par la suite, comme nous voulions uniquement savoir si la réfrigération avait ou non conféré l'aptitude à fleurir, nous avons choisi d'utiliser comme conditions de journées longues des durées d'éclairement égales à 16 heures par 24 heures. Il se trouvait, comme nous l'avons déjà signalé, que cette photopériode était la plus favorable à la culture des plantes en serre, et, ainsi, nous pouvions utiliser au mieux l'emplacement dont nous disposions.

*I. — LE BESOIN DE VERNALISATION D'*ŒNOTHERA BIENNIS *L. : SES CARACTÈRES QUALITATIFS*

A. — L'ABSENCE DE RÉFRIGÉRATION : SES CONSÉQUENCES POUR LA MISE A FLEUR

Une trentaine de plantes sont cultivées, depuis 1957, en serre tiède et exposées à des journées longues.

Elles sont toujours en rosettes et n'ont jamais, jusqu'à maintenant, présenté de signe de mise à fleur.

Dans les conditions normales de la vie en serre, en conditions eupériodiques, les plantes non réfrigérées restent donc toujours à l'état végétatif.

B. — LE REMPLACEMENT ÉVENTUEL DE LA RÉFRIGÉRATION PAR UNE EXPOSITION PROLONGÉE AUX JOURNÉES COURTES

A cinq reprises, en serre, nous avons transféré en conditions de journées longues des lots de 20 plantes cultivées depuis le semis en conditions de journées courtes et âgées respectivement de 1, 2, 3, 4, 5, 6 mois et un an.

Comme dans le cas précédent, toutes ces plantes sont restées en rosettes végétatives. Le changement de conditions photopériodiques s'est seulement accompagné de transformations morphologiques caractéristiques : en effet, à la température régnant dans la serre (18 à 20° C), la croissance des plantes exposées à des jours courts est assez

lente (plastochrone compris entre 10 et 12 jours); les feuilles sont plus ou moins losangiques, à limbes courts (2 cm environ), à pétioles réduits (moins de 1 cm de longueur), elles sont appliquées sur le sol. En conditions de journées longues, par contre, la croissance est plus rapide (plastochrone de l'ordre de 5 à 6 jours); les feuilles sont grandes : leurs limbes de forme oblongue atteignent une dizaine de centimètres, les pétioles allongés (au moins 5 cm) sont légèrement dressés et, seules, les vieilles feuilles commençant à jaunir, à la périphérie des rosettes,

Fig. 6.

Fig. 7.

Fig. 6. — *Œnothera biennis* L. cultivée en serre et conditions de journées longues (hauteur du pot : 9 cm).

Fig. 7. — *Œnothera biennis* L. cultivée en serre et conditions de journées courtes (hauteur du pot : 9 cm).

s'étalent sur le sol. Les figures 6 et 7 montrent ce léger dimorphisme foliaire et mettent bien en évidence la différence de port des plantes cultivées dans ces deux types de conditions photopériodiques.

Après le transfert des plantes en conditions de journées longues, les nouvelles feuilles formées ont vite recouvert les petites feuilles anciennes qui n'ont pas tardé à faner. Ainsi, au bout d'un mois, les plantes étaient tout à fait identiques aux témoins toujours exposés à cette photopériode (16 heures par 24 heures). Mais il n'y a eu aucun virage vers l'état reproductif. Il ne s'agit donc pas ici d'une espèce présentant ce que Chouard appelle le « phénomène de Wellensiek », c'est-à-dire la suppléance, par les jours courts, du froid vernalisant.

C. — L'INFLUENCE ÉVENTUELLE DES CONDITIONS DE NUTRITION SUR LE BESOIN DE RÉFRIGÉRATION

Des expériences conduites au Phytotron ont permis à des chercheurs, en particulier à M^me^ Tran Thanh Van dont les travaux sur *Geum urbanum* sont cités par Chouard [16], de remarquer une influence particulière des conditions de nutrition sur l'acquisition de l'aptitude à la floraison : certaines plantes, parmi lesquelles la Benoîte, exigent absolument, lorsqu'on les cultive en pleine terre ou en pots dans de la terre, une exposition à basses températures pour pouvoir fleurir ultérieurement (Chouard et Weber). Par contre, dans les conditions de culture réalisées aux super-serres de Gif (milieu nutritif complet et riche sur vermiculite et laine de verre, en présence de fortes intensités lumineuses), ces plantes finissent par fleurir sans avoir eu besoin de froid vernalisant.

Nous avons cherché à savoir si des conditions identiques pouvaient provoquer la floraison d'*Œnothera biennis* L. en l'absence de toute réfrigération.

Comme nous désirions connaître (en cas de résultat positif) le facteur déterminant, nous avons préféré opérer dans des conditions matérielles un peu différentes de celles qui sont réalisées à Gif : en particulier, nous n'avons pas utilisé de substrat solide. Nous avons donc effectué des essais en aquiculture au sens strict, décrits dans le chapitre consacré aux techniques. L'expérience a été réalisée en conditions de journées longues; elle a duré pendant presque une année.

Les 30 plantes utilisées pour cette expérience ont été repiquées en terre et exposées en serre aux journées longues jusqu'à ce qu'elles aient formé leur 40^e^ feuille.

Dès les premiers jours de la vie en aquiculture, des racines longues et grêles se sont développées sur la souche qui s'était épaissie et remplie de réserves pendant la croissance en terre : la comparaison entre la photographie prise 8 semaines après le début des cultures sur milieu nutritif liquide (fig. 8) et celle d'une plante témoin au même moment (fig. 9) met nettement en évidence la différence entre les deux types de racines et montre le développement de l'appareil absorbant en milieu liquide. Elle permet aussi d'apprécier l'importance de la croissance végétative en aquiculture : les bourgeons axillaires donnent naissance à de nombreuses petites rosettes périphériques; celles-ci, ayant formé des racines, se séparent de la plante-mère à laquelle elles ne sont plus reliées par la souche qui a, peu à peu, pourri.

Mais, contrairement à ce qui se passe chez la Benoîte, cette croissance végétative intense se poursuit depuis un an sans que se manifeste aucun signe de mise à fleur.

FIG. 8. — Une Onagre placée depuis 8 semaines sur milieu nutritif.

FIG. 9. — Onagre identique à celle de la figure 8, mais toujours cultivée en terre.

D. — TYPE DE RÉFRIGÉRATION EFFICACE

1° Protocole expérimental.

Nous devons préciser que toutes les expériences préliminaires ont été réalisées de la manière suivante :

Des semis échelonnés permettaient d'obtenir, chaque semaine, des plantes parvenues au même état de développement. Divers lots comparables pouvaient ainsi être exposés au froid de semaine en semaine. Une telle façon de faire aboutissait à ce que toutes les plantes d'une même série expérimentale soient sorties en même temps de la chambre froide et exposées toutes ensemble aux conditions réalisées dans la serre. Toutefois, des irrégularités dans les levées des semis ont rendu difficile et aléatoire l'obtention constante de plantes ayant atteint un même état de développement végétatif au moment voulu.

Nous avons donc comparé cette façon d'expérimenter avec la technique inverse : toutes les plantes parvenues au même stade morphologique étaient introduites au même moment dans la chambre froide, puis sorties et placées en serre successivement, à des intervalles de temps réguliers.

Comme les deux types d'expérimentation ont donné des résultats ne présentant aucune différence significative, nous avons préféré cette seconde façon d'agir, car elle permettait de mener plus sûrement à bien les essais prévus.

Dans les deux cas, les imperfections tiennent au même fait, mais elles se manifestent à des moments différents : avec la première technique, les plantes que l'on compare n'ont pas été soumises exactement aux mêmes conditions de vie avant la réfrigération; dans le deuxième cas, c'est au moment de l'expression des résultats que les divers individus ne sont pas exposés exactement aux mêmes conditions d'environnement. Il nous semble que, dans le cas particulier d'*Œnothera biennis* L., le second type d'expérimentation est moins critiquable, car les durées de vie des plantes en serre avant l'action des basses températures sont longues (au moins 2 mois), alors que l'observation des résultats après la fin de la réfrigération est totalement terminée en moins d'un mois. Il nous était, de ce fait, plus aisé de contrôler les conditions de milieu déterminantes à la fin des expériences.

2° Expériences et observations.

a) Au début de ce travail, nous avons essayé de vernaliser des graines et des plantes feuillées dans les conditions habituellement utilisées dans ce domaine de recherche : nous exposions le matériel à des basses températures données pendant des durées variables. Nous n'insisterons pas ici sur la description de ces nombreuses expériences, car,

quelle que soit la température choisie (+3° C, ou +7° C, ou +13° C), quelles que soient les conditions d'éclairement à ce moment et quel que soit l'état de développement végétatif du matériel, nous n'avons en général pas réussi à vernaliser les Onagres. Seules des plantes ayant formé leur 30e feuille ont fleuri après une réfrigération de 55 semaines à +3° C en conditions de journées courtes; leurs tiges étaient fort grêles, courtes (30 cm environ) et les inflorescences ne portaient que 5 à 6 fleurs ne parvenant pas à fructifier.

b) Nous avons alors eu la possibilité de soumettre le matériel végétal à une alternance quotidienne de basses températures et de légers réchauffements : cela nous a permis de tenter la vernalisation d'*Œnothera biennis* L. dans des conditions plus semblables à celles qu'offre la nature pendant la saison froide, sous les climats des pays où cette plante pousse spontanément. Les différentes températures utilisables étaient +3° C, +7° C et +13° C. Le passage d'une condition thermique à une autre se faisait deux fois par 24 heures (à 9 heures et à 17 heures) par transfert des pots d'une serre réfrigérée dans une autre. Pendant l'expérience, réalisée à Gif pendant les mois de décembre 1959, janvier et février 1960, les plantes ont reçu l'éclairement naturel de l'hiver. Le tableau II précise les conditions auxquelles des plantes, parvenues au stade 40e feuille, ont été soumises pendant des durées respectivement égales à 7, 8, 9, 10 et 11 semaines, et il exprime le résultat de cet essai destiné à conférer aux plantes l'aptitude à former leurs fleurs.

TABLEAU II. — NOMBRE DE PLANTES QUI FLEURISSENT EN SERRE ET EN CONDITIONS EUPÉRIODIQUES APRÈS RÉFRIGÉRATION DANS DIVERSES CONDITIONS DE TEMPÉRATURES. (Lots de 6 plantes, ayant formé leur 40e feuille au début de l'exposition aux basses températures.) Éclairement naturel (hiver 1959-1960).

CONDITIONS DE RÉFRIGÉRATION			DURÉE DE RÉFRIGÉRATION (semaines)				
N°	De 9 h à 17 h	De 17 h à 9 h	7	8	9	10	11
1	+ 3° C	+ 3° C	0	0	0	0	0
2	+ 7° C	+ 7° C	0	0	0	0	0
3	+13° C	+13° C	0	0	0	0	0
4	+ 7° C	+ 3° C	0	0	0	0	2
4 *bis*	+ 3° C	+ 7° C	0	0	0	0	0
5	+13° C	+ 3° C	0	0	0	3	5
5 *bis*	+ 3° C	+13° C	0	0	0	0	0
6	+13° C	+ 7° C	0	0	0	0	0
6 *bis*	+ 7° C	+13° C	0	0	0	0	0

Ces résultats confirment la constatation déjà faite : *Œnothera biennis* L. ne peut être vernalisée par exposition à des températures basses continues; une certaine alternance de températures est indispensable. Si l'on compare les conditions expérimentales n° 6, d'une part, et 4 et 5, d'autre part, on s'aperçoit qu'il faut toutefois que l'une des deux

températures soit assez basse. Une amplitude de variation supérieure à 4° C paraît favorable.

c) Comme la température de +13° C nous semblait un peu élevée par rapport aux conditions naturelles de l'hiver, nous avons essayé de trouver, pour la suite de nos expériences, un rythme d'alternance encore plus efficace pour la vernalisation de l'Onagre.

Dans une chambre froide, nous avons soumis des plantes parvenues au stade 40e feuille au rythme suivant : +3° C de 21 h 30 à 7 heures (période d'obscurité dite « de nuit ») et +11° C de 7 h 30 à 19 heures

Tableau III. — Nombre de plantes qui fleurissent en serre et en conditions de journées longues après exposition a des alternances de températures de rythmes divers. (Lots de 6 plantes.)

Conditions de réfrigération	Durée de réfrigération (semaines)				
	8	9	10	11	12
+11° C le jour, + 3° C la nuit.....	0	0	1	3	6
+ 3° C le jour, +11° C la nuit.....	0	0	0(*)	0(*)	0(*)

(*) Signifie qu'un certain nombre de plantes sont mortes pendant l'expérience : 3 après 10 semaines de réfrigération, 5 à la fin de l'essai

(période d'éclairement dite « de jour ») (1), et d'autres rosettes identiques aux conditions inverses. Les résultats sont exprimés dans le tableau III.

La comparaison des tableaux II et III nous a alors incitée à régler l'unique chambre froide, dont nous disposions désormais, selon le rythme d'alternance, +11° C le jour, +3° C la nuit.

d) Enfin, pendant l'hiver 1959-1960, nous avons cherché à vernaliser des plantes en les exposant au froid naturel, comme nous l'avions fait avec succès l'année précédente. Pour cela, en juillet 1959, nous avions semé des graines en pleine terre, dans un jardin de la région parisienne, et, d'autre part, au laboratoire, à Paris, 35 plantes en pots ayant formé leur 30e feuille ont été placées dès le début de novembre, sur un balcon, en plein air; les pots étaient enfouis dans des caissettes de terre pour que les parties souterraines ne soient pas soumises à un trop fort dessèchement et se trouvent un peu protégées du froid comme elles le sont en pleine terre, dans la nature. Les 27 plantes ayant survécu à Paris et les 32 rosettes demeurant en pleine terre sont toutes restées végétatives.

(1) Nous rappelons que, dans cette chambre froide, le passage d'une température à une autre exigeait un certain temps (voir le chapitre consacré aux techniques). Nous n'avons indiqué ici que les périodes pendant lesquelles les plantes subissaient *effectivement* les températures citées.

Les relevés effectués pendant l'automne et l'hiver 1959-1960, à l'Observatoire de Saint-Maur (1), précisent que ces saisons furent particulièrement tièdes : les jours de gelée furent rares, leur nombre resta très inférieur à la normale : 0 en novembre, 1 en décembre, 5 en janvier, 10 jours consécutifs en février et 4 seulement en mars. De longues périodes furent même chaudes : les maximums absolus de certains jours de novembre, de décembre et de mars n'avaient pas été

FIG. 10.

Tige florifère fasciée formée à l'été 1961, par une Onagre ayant subi le froid hivernal pendant deux années successives (1959-1960 et 1960-1961).

atteints depuis 85 ans. En janvier et février, il y eut même trois semaines consécutives de chaleur, les températures ont alors dépassé toutes les valeurs jamais notées pour les mois correspondants dans les registres de l'Observatoire. Après un début d'hiver pluvieux et mal ensoleillé, l'insolation était devenue assez forte à partir de janvier.

Les énormes rosettes développées en pleine terre durent subir un second hiver (celui-ci assez rigoureux) pour être capables de fleurir à l'été 1961; les tiges florifères alors formées par ces plantes furent

(1) Ces observations nous furent communiquées grâce à M. le Pr E. THELLIER auquel nous exprimons ici notre reconnaissance.

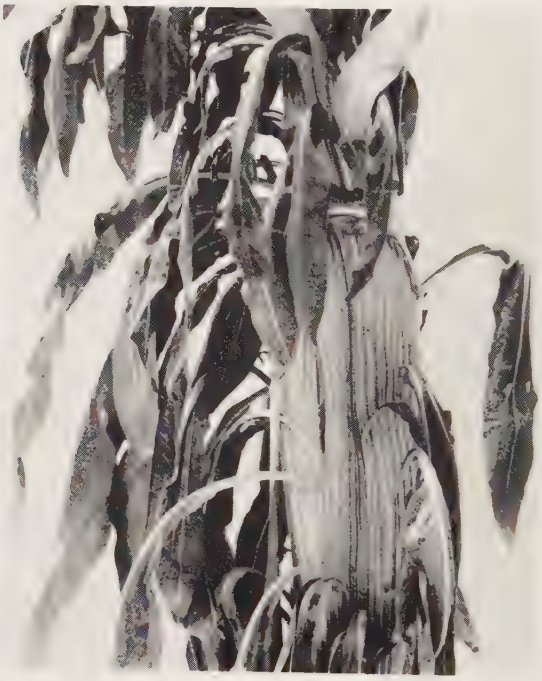


Fig. 11. — Détail d'une tige fasciée.

Fig. 12. — Fasciation dans une inflorescence.

géantes (1,50 m au moins) et leur développement s'accompagna de nombreuses anomalies (les figures 10, 11 et 12 montrent quelques fasciations présentées par ces plantes).

E. — CONCLUSION

De ces observations, il faut déduire qu'*Œnothera biennis* L. var. *sulfurea* est une plante bisannuelle typique *exigeant absolument* le froid pour acquérir l'aptitude à la floraison et que ni un niveau de nutrition élevé, ni des conditions photopériodiques particulières (journées courtes puis journées longues) ne peuvent remplacer les basses températures pour la préparation à la mise à fleur.

D'autre part, il faut aussi insister sur le fait que les basses températures données d'une façon continue sont incapables de provoquer la vernalisation de cette plante, car *elle exige absolument que le froid soit entrecoupé de périodes de légers réchauffements.* Une semblable exigence, *à caractère absolu*, n'a jamais encore été signalée par aucun des nombreux auteurs qui se sont attachés à ce sujet de recherche, ni chez les plantes bisannuelles, ni chez les plantes vivaces. Cela signifie que cette plante a des besoins de réfrigération qualitativement différents de ceux des autres végétaux étudiés. Il est toutefois possible que, dans quelques cas tout au moins, des alternances de températures bien choisies puissent être plus efficaces que du froid continu pour la vernalisation d'autres plantes.

Enfin, ces expériences montrent que *la vernalisation peut se dérouler entre +3° C et +13° C.*

*II. — CARACTÉRISTIQUES QUANTITATIVES DE LA VERNALISATION D'*ŒNOTHERA BIENNIS *L.*

A. — LE BESOIN DE FROID ET L'AGE DES PLANTES

1° Essais de vernalisation des graines.

Nous avons tenté de vernaliser les plantes à l'état de graines ayant germé : 3 lots de 100 graines ont été mis à tremper, à la lumière du jour, pendant 3 jours à +15° C dans de l'eau distillée, puis placés sur papier filtre humide dans des boîtes de Pétri, à la chambre froide à +3° C pendant des durées respectivement égales à 1, 2 et 3 mois.

3 lots de 100 graines ayant germé ont, de même, été soumis à une réfrigération avec alternances de températures pendant des durées respectivement égales à 1, 2 et 3 mois.

Après quoi, toutes les graines de ces lots ont été semées en serre en même temps qu'un lot de graines témoins non réfrigérées.

Toutes les plantes obtenues sont toujours restées en rosettes, sans jamais former aucune fleur.

2° Réfrigération de plantes à l'état de rosettes.

Pour connaître les caractéristiques quantitatives de la vernalisation des plantes feuillées, nous avons effectué, à de nombreuses reprises, deux types d'expériences :

— réfrigération, pendant des *durées variables,* de plantes parvenues au *même stade morphologique;*

— réfrigération, pendant une *même durée,* de plantes parvenues à des *états de développement végétatif différents.*

Nous ne décrirons pas la succession de tous ces essais qui furent tantôt d'une sorte, tantôt de l'autre, selon le nombre de plantes identiques dont nous disposions à un moment donné et selon la place libre à ce moment dans la chambre froide.

Un tableau (tableau IV) et un graphique à trois dimensions (fig. 13) récapitulent mieux tous les résultats obtenus.

Tableau IV. — Pourcentage de plantes parvenues a divers stades morphologiques, fleurissant en serre et en conditions de journées longues après des durées diverses de réfrigération.

Stade morphologique atteint par les plantes au début de la réfrigération	Durée de réfrigération (semaines) J. L.											
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
5e feuille	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10e feuille	0	0	0	0	0	14	32	88	90	100	100	100
20e feuille	0	0	0	0	8	20	46	92	100	100	—	—
30e feuille	0	0	0	10	24	68	100	100	—	—	—	—
40e feuille	0	2	34	52	90	100	100	—			—	—
50e feuille	0	0	22	86	100	100	—	—			—	—
60e feuille	0	0	30	70	100	100	—	—	—	—	—	
70e feuille	0	4	60	82	100	—	—			—		—
80e feuille	0	0	48	100	100	—	—	—	—	—	—	—

« J. L. » signifie « conditions de journées longues ».

Il s'agit, en l'occurrence, de lots de *20 plantes toujours cultivées en conditions de journées longues et réfrigérées sous la même photopériode* selon le rythme nycthéméral d'alternances quotidiennes de températures déjà précisé : +11° C pendant le jour, +3° C la nuit.

Ces résultats mettent en évidence plusieurs faits importants :

1° Les plantes doivent avoir atteint un certain état de développement végétatif pour être sensibles à l'action vernalisante des basses températures. *Il existe,* chez *Œnothera biennis* L., ce que Wellensiek nomme « *une phase juvénile* » : elle dure, en conditions de journées longues, au tiède, jusqu'à ce que la plante ait formé sa 10e feuille. A ce moment, la « maturité de vernalisation », selon l'expression proposée

par Chouard, est atteinte; on peut dire que les plantes sont alors « adultes » bien que non mises à fleur ni rendues « aptes à fleurir ».

2° Une fois la phase juvénile terminée, *les plantes sont d'autant plus rapidement vernalisées* par les basses températures *qu'elles sont parvenues à un état de développement végétatif plus grand au début du traitement.*

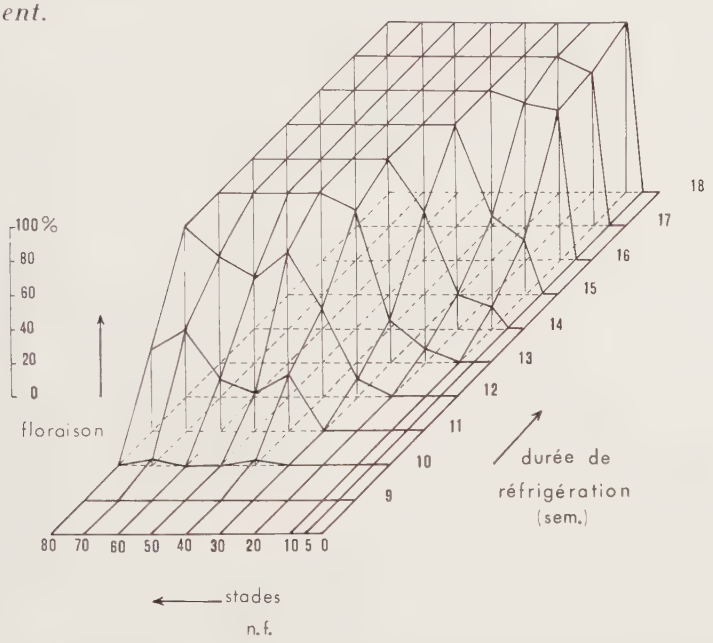


Fig. 13. — Pourcentage de plantes parvenues à divers stades morphologiques, fleurissant en serre et en conditions de journées longues après une réfrigération de durée variable.

Les stades morphologiques sont exprimés en nombre de feuilles *(n. f.)* formées par les plantes au moment de l'entrée en chambre froide.

La durée de réfrigération est exprimée en semaines *(sem.)*.

3° Toutefois, *la durée de réfrigération nécessaire* (en conditions d'alternances de températures) *ne devient jamais inférieure à un minimum* (qui est de l'ordre de 10 à 11 semaines dans les conditions précisées ci-dessus).

3° Vernalisation de plantes feuillées après réfrigération des graines.

Une partie des plantes provenant des semis de graines réfrigérées pendant des durées égales à 2 et 3 mois (même chapitre, paragraphe II, A, 1°) ont été placées en chambre froide dès l'apparition de leur 20e feuille. Il leur a fallu un minimum de 15 semaines de vie à basses températures, en conditions de journées longues, pour qu'elles puissent ensuite fleurir.

La réfrigération préalable des graines ne diminue donc point le besoin ultérieur de froid des plantes adultes.

B. — LE BESOIN DE RÉFRIGÉRATION ET LA PHOTOPÉRIODE

1° Influence de la photopériode subie avant la réfrigération.

Des expériences semblables aux précédentes ont été réalisées avec des *plantes toujours exposées à des journées courtes avant l'action des basses températures.* Comme précédemment, pendant le séjour au froid, les rosettes étaient placées en conditions de journées longues, la période « claire » coïncidant avec le léger réchauffement quotidien.

Les résultats sont récapitulés dans le tableau V. Les lots étaient moins importants que pour les expériences précédentes (10 plantes seulement) car nous disposions, pour les cultures en conditions de journées courtes, d'une place réduite, et la croissance des plantes sous cette photopériode était en général assez mauvaise. C'est pourquoi nous n'avons pas exprimé les résultats en pourcentages mais en nombre de plantes qui fleurissent ensuite.

Tableau V. — Nombre de plantes élevées en conditions de journées courtes qui fleurissent en serre et en conditions de journées longues après réfrigération. (Lots de 10 plantes.)

Stade morphologique atteint par les plantes a l'entrée en chambre froide	Durée de réfrigération (semaines) J. L.								
	12	13	14	15	16	17	18	19	20
15e feuille	0	0*	0	0	0	0	0***	0	0*
20e feuille	0*	0	0*	0	2	6**	8	10	—
30e feuille	0	0	0**	3	5	8*	10	—	—
40e feuille	0*	0	2	5*	8	8	9*	—	—
50e feuille	0	2	6	7	7	9	10	—	—
60e feuille	0	1	8	7	10	9	—	—	—

« J. L. » signifie « conditions de journées longues ».
Le nombre d'astérisques indique le nombre de plantes mortes pendant le séjour au froid.

La comparaison des tableaux IV et V montre que la maturité de vernalisation est atteinte plus tardivement si les plantes sont exposées à des journées courtes que si elles sont soumises à des journées longues : les plantes, cultivées en serre avec 8 heures d'éclairement par vingt-quatre heures ne sont « adultes » que lorsqu'elles ont formé leur vingtième feuille. Or, à 18°-20° C, sous cette photopériode, il faut environ 5 à 6 mois pour que les Onagres atteignent ce stade morphologique. Si, par contre, elles sont toujours exposées à des journées longues, les rosettes deviennent vernalisables au bout de 50 à 60 jours après la germination. A titre indicatif, nous précisons, dans le

tableau VI, les surfaces foliaires moyennes des différentes plantes évoquées, ainsi que les quantités de matière fraîche et de matière sèche correspondantes.

Tableau VI. — Surfaces foliaires et quantités de matière fraîche et de matière sèche de plantes parvenues, en serre, a la maturité de vernalisation

Nombre total de feuilles formées par les plantes cultivées a 18-20° C	Conditions photo-périodiques	Surface foliaire d'une plante (cm^2)	Quantité de matière fraîche (mg/plante)		Quantité de matière sèche (mg/plante)	
			Feuilles	Racines	Feuilles	Racines
10 feuilles	Jours longs.	85	4 600	700	480	40
20 feuilles	Jours courts.	30	250	70	30	15

La comparaison des tableaux IV et V montre également que les rosettes adultes exigent d'autant moins de froid qu'elles sont plus développées au début de la réfrigération. En cela, elles sont semblables aux plantes toujours exposées aux journées longues (pendant leur vie en serre et pendant leur séjour en chambre froide).

Enfin, les durées de réfrigération nécessaires pour vernaliser des rosettes adultes parvenues à un certain stade morphologique sont un peu plus grandes si les plantes ont été cultivées en conditions de journées courtes que si elles ont été soumises à des journées longues. Le tableau VI donne une explication au moins partielle de ce fait, car il montre qu'un nombre de feuilles donné correspond à un développement végétatif moins important en conditions de jours courts qu'en conditions de jours longs.

2° *Influence de la photopériode subie pendant la réfrigération.*

a) Nous devons d'abord signaler l'impossibilité de vernaliser les Onagres à l'obscurité car, au bout de 2 semaines au plus, toutes les plantes sont mortes.

b) Nous avons cherché à savoir si, dans les conditions de température données, la vernalisation s'accomplissait aussi vite en conditions de jours courts qu'en conditions de jours longs.

Pour cela, nous avons placé en chambre froide 4 lots de plantes : la moitié des individus de chaque lot était placée en conditions de journées courtes, l'autre moitié en conditions de journées longues. Les résultats sont réunis dans le tableau VII qui montre que les différences observées ne sont pas significatives, car elles ne portent pas sur la durée minimale de réfrigération efficace dans chaque cas.

Tableau VII. — Nombre de plantes qui fleurissent en serre dans des conditions de journées longues après réfrigération dans des conditions photopériodiques différentes. (Lots de 8 plantes.)

Nombre total de feuilles formées par les plantes au début de la réfrigération	Durée de la réfrigération (semaines)							
	10		11		12		13	
	Conditions photopériodiques pendant la réfrigération							
	J. C.	J. L.	J. C.	J. L.	J. C.	J. L.	J. C.	J. L.
50 feuilles	0	0	1	2	5	5	8	8
60 feuilles	0	0	2	2	4	3	7	8
70 feuilles	0	1	3	5	5	7	7	8
80 feuilles	1	0	4	4	8	8	8	8

« J. C. » signifie « conditions de journées courtes ».
« J. L. » signifie « conditions de journées longues ».

Donc aux éclairements donnés (31 500 ergs/cm²/s), *la photopériode subie pendant le traitement vernalisant ne semble pas jouer de rôle dans l'acquisition de l'aptitude à la floraison.*

c) D'autre part, nous avons déjà signalé (tableau III) l'impossibilité de vernaliser les rosettes lorsque le rythme nycthéméral d'alternances de températures se trouve inversé, c'est-à-dire lorsque les basses températures sont données pendant la période de jour. En général, les plantes périssent entre la 7e et les 12e et 13e semaines de traitement.

Nous avons recommencé une dernière fois cette expérience : 65 Onagres cultivées en serre et exposées aux jours longs jusqu'à ce qu'elles aient formé leur 55e feuille, ont été soumises aux conditions de température suivantes :

— de 9 h 30 à 19 heures : + 3° C;

— de 19 h à 19 h 30 : élévation progressive de la température jusqu'à + 11° C;

— de 19 h 30 à 7 heures : + 11° C;

— de 7 heures à 9 h 30 : baisse progressive de + 11° C à + 3° C.

L'éclairement était donné de la façon suivante :

— de 5 heures à 21 heures : lumière;

— de 21 heures à 5 heures : obscurité.

Seules 6 plantes ont survécu à 18 semaines de ce traitement. Les autres avaient perdu peu à peu toutes leurs feuilles. Les 6 individus restants, réduits, pour leurs parties aériennes, à quelques feuilles minuscules, n'ont formé ni tige ni fleur après leur retour en serre. La figure 14 permet de comparer l'état de développement d'une de ces plantes, 5 jours après son retour en serre, avec celui d'une plante témoin non réfrigérée. Le tableau VIII renseigne sur les surfaces foliaires et les

FIG. 14. — A droite, Onagre exposée pendant 18 semaines au mode de réfrigération suivant : +3° C le jour, +11° C la nuit. (Diamètre du pot : 9 cm.)
A gauche, plante témoin cultivée en serre. (Diamètre du pot : 15 cm.)

quantités de matière fraîche et de matière sèche de ces plantes ainsi que sur celles de plantes parvenues au même stade morphologique et vernalisées par une alternance de températures donnée selon le rythme nycthéméral inverse.

TABLEAU VIII. — INFLUENCE DE RYTHMES INVERSES D'ALTERNANCES DE TEMPÉRATURES SUR LA SURFACE FOLIAIRE DES PLANTES ET SUR LES QUANTITÉS DE MATIÈRE FRAÎCHE ET DE MATIÈRE SÈCHE QUI LES CONSTITUENT.

PLANTES AYANT FORMÉ 55 FEUILLES	SURFACE FOLIAIRE D'UNE PLANTE (cm^2)	QUANTITÉ DE MATIÈRE FRAÎCHE (mg/plante)		QUANTITÉ DE MATIÈRE SÈCHE (mg/plante)	
		Feuilles	Racines	Feuilles	Racines
Plante témoin *non réfrigérée*	250	10 200	5 000	820	1 900
Plante *réfrigérée* +3° C le jour, +11° C la nuit pendant 18 semaines	7	190	1 100	20	115
Plante *vernalisée* +11° C le jour, +3° C la nuit pendant 18 semaines	140	6 400	4 750	900	750

Il est donc indispensable, pour que la vernalisation puisse se dérouler normalement, que la température la plus basse coïncide avec

la période nocturne. Le rythme inverse stoppe totalement la croissance, car il doit réduire de façon importante l'assimilation et perturber les migrations. Or, quand la réfrigération est efficace pour conférer l'aptitude à fleurir c'est-à-dire « vernalisante », elle ne bloque jamais la croissance végétative.

C. — ACTION D'UNE RÉFRIGÉRATION PROLONGÉE

Le fait de garder les plantes au froid plus longtemps qu'il n'est nécessaire pour les vernaliser, entraîne les conséquences suivantes :

1° *Les plantes commencent à s'allonger plus rapidement après retour en serre, en conditions eupériodiques :* par exemple, des Onagres vernalisées au stade 50e feuille par un séjour de 12 semaines en chambre froide, commencent à présenter des entre-nœuds bien visibles 15 jours après leur transfert au tiède avec 16 heures d'éclairement par 24 heures. Si les plantes sont restées 16 semaines en chambre froide, l'élongation de la tige débute dès le cinquième jour après la mise en conditions favorables à l'expression de la floraison.

2° Si la réfrigération est longuement prolongée, *la tige commence à s'allonger au froid,* au bout de la vingt-deuxième semaine pour des plantes parvenues au stade 25e feuille. Cette élongation est fort lente : 2 cm par semaine environ. Elle est limitée. Si les plantes sont exposées en chambre froide à des journées courtes, l'allongement des entre-nœuds cesse lorsque la tige atteint 10 à 12 cm, les feuilles que celle-ci porte tombent et il se forme une rosette perchée à la partie supérieure de la courte tige. Mais si les plantes, en chambre froide, sont éclairées pendant 16 heures par 24 heures, la croissance en longueur des tiges se poursuit; elles atteignent 50 à 60 cm et *des boutons floraux finissent par se former au bout de 35 semaines de réfrigération.* Toutefois, les fleurs ne s'épanouissent pas et des dissections montrent que les pétales ne croissent pas.

Donc, au froid, l'élongation des tiges est possible et, en conditions eupériodiques, les plantes peuvent même former leurs boutons floraux.

D. — EFFICACITÉ D'UNE RÉFRIGÉRATION INTERROMPUE PAR DES EXPOSITIONS A 15° C ET 18° C

La durée minimale de réfrigération nécessaire pour la vernalisation étant connue, nous avons essayé de donner cette période de froid (et même une durée supérieure) en plusieurs fois, les séjours successifs en chambre froide étant séparés par des expositions à des tempéra-

tures comprises entre 15° C et 18° C. Le tableau IX indique le plan de ces expériences.

Au *début* de l'expérience, les plantes étaient au stade 10e feuille; les lots étaient de 6 plantes; les conditions photopériodiques sont restées inchangées pendant la vie de ces plantes : il s'agissait de journées longues.

Aucune de ces rosettes n'a formé de tige, ni de fleur. Pourtant 17 et 18 semaines de réfrigération ininterrompue (dans les mêmes condi-

Tableau IX. — Plan des expériences portant sur l'effet d'interruptions de la réfrigération

Plan des divers essais (F) = semaines de réfrigération. (i) = semaines d'interruption.	Durée totale de l'expérience (semaines)	Durée totale de réfrigération (semaines)
8 (F) + 4 (i) + 3 (F) + 1 (i) + 6 (F)	22	17
9 (F) + 3 (i) + 3 (F) + 1 (i) + 6 (F)	22	18
9 (F) + 3 (i) + 3 (F) + 7 (i) + 3 (F)	25	15
10 (F) + 3 (i) + 9 (F)	22	19
11 (F) + 2 (i) + 9 (F)	22	20
13 (F) + 3 (i) + 6 (F)	22	19
14 (F) + 2 (i) + 6 (F)	22	20
14 (F) + 5 (i) + 3 (F)	22	17
15 (F) + 4 (i) + 3 (F)	22	18

tions d'alternances de températures) confèrent l'aptitude à fleurir à des plantes parvenues à cet état de développement. Il faut même remarquer que la croissance des Onagres étudiées ici ne s'est jamais trouvée stoppée; ainsi, lors de la seconde période de réfrigération, elles avaient formé leur 20e feuille, c'est-à-dire qu'elles étaient parvenues à un stade où le besoin de réfrigération est inférieur à celui qui est nécessaire à des rosettes plus petites.

Pour être enfin aptes à fleurir, ces plantes ont alors dû subir une *réfrigération totale et ininterrompue.*

Pendant des expositions à 15°-18° C entrecoupant la réfrigération, l' « état » atteint par le déroulement partiel de la vernalisation se trouve détruit.

⁂

A maintes reprises, nous avons insisté sur le fait que la croissance des rosettes, soumises aux conditions thermiques requises pour leur vernalisation, n'est jamais stoppée à ces températures. Elle se fait toutefois selon un rythme différent de celui qu'elle prend en serre et, ainsi, elle s'exprime par une morphologie différente, tellement typique qu'elle mérite d'être maintenant décrite.

III. — L'ÉVOLUTION MORPHOLOGIQUE DE LA PLANTE PENDANT SA VERNALISATION

Le brusque changement de conditions d'environnement s'accompagne de transformations caractéristiques; quels que soient l'état de développement préalable des rosettes et les conditions de leur culture antérieure, la vie au froid produit peu à peu des modifications qui aboutissent à donner à toutes les plantes un aspect identique.

Fig. 15. — Onagres placées depuis 5 semaines en chambre froide, en conditions de journées courtes. (Diamètre du pot : 15 cm.)

L'exposition aux basses températures (+3° C, +11° C) a pour effet de stopper momentanément toute manifestation *visible* de la croissance, c'est-à-dire principalement tout allongement de nouvelles feuilles.

Quelle que soit la taille de la plante mise en expérience, les feuilles les plus âgées jaunissent peu à peu et commencent à tomber.

Dès la troisième semaine d'exposition au froid, toutes les parties foliaires accumulent des pigments anthocyaniques : des taches rouges apparaissent sur les limbes, les nervures deviennent complètement rouges.

A partir de la quatrième semaine, de jeunes feuilles commencent à s'allonger. Une semaine plus tard, les deux à trois feuilles qui étaient toutes jeunes lors du transfert au froid, mesurent environ 7 cm. L'accumulation de pigments est alors très importante : les faces inférieures des limbes des feuilles les plus âgées sont uniformément

Fig. 16. — Onagre placée depuis 7 semaines en chambre froide, en conditions de journées longues.
Remarquer les deux types de feuilles. (Diamètre du pot : 15 cm.)

Fig. 17. — A gauche, Onagre placée depuis 3 semaines en chambre froide, en conditions de journées longues.
A droite, plante identique, réfrigérée dans les mêmes conditions depuis 7 semaines. (Diamètre des pots : 15 cm.)

rouges; les limbes des jeunes feuilles présentent un liséré de petits points rouges (fig. 15).

A partir de la cinquième ou de la sixième semaine, les nouvelles feuilles qui grandissent ont une forme caractéristique : limbes larges d'environ 3 cm, relativement courts (7 cm), pétioles de longueur toujours inférieure à 2 cm. Les figures 16 et 17 montrent bien ce dimorphisme foliaire au bout de 7 semaines de réfrigération. La figure 18 permet de comparer une plante en cours de réfrigération et une plante témoin; les figures 19 et 20 mettent en évidence la similitude d'aspect

Fig. 18. — A droite, Onagre placée depuis 7 semaines en chambre froide, en conditions de journées longues.

A gauche, plante témoin cultivée en serre dans les mêmes conditions photopériodiques. (Diamètre des pots : 15 cm.)

de plantes parvenues au stade 25^{e} feuille et exposées au froid depuis 8 semaines, l'une en conditions de journées courtes, l'autre en conditions de journées longues; ces mêmes photographies permettent, dans l'un et l'autre cas, la comparaison avec les plantes témoins non réfrigérées. Les vieilles feuilles ne sont pas encore toutes tombées et on remarque que celles qui, toutes minuscules, constituaient le cœur de la rosette lors du passage en chambre froide, ont eu une croissance perturbée. Ceci se traduit au moment présent par un aspect caractéristique : limbes et pétioles plus ou moins tordus; des inégalités de croissance sont responsables de l'aspect gaufré des limbes.

Dès les dixième et onzième semaines, toutes les vieilles feuilles sont tombées; 4 à 5 nouvelles feuilles à limbes épais sont formées et, à

FIG. 19. — A droite, plante exposée depuis 8 semaines à la réfrigération, en conditions de journées courtes.

A gauche, plante témoin cultivée en serre, sous la même photopériode. (Diamètre des pots : 9 cm.)

FIG. 20. — A droite, plante exposée depuis 8 semaines à la réfrigération, en conditions de journées longues.

A gauche, plante témoin cultivée en serre sous la même photopériode. (Diamètre des pots : 9 cm.)

partir de ce moment, le rythme d'apparition des nouvelles feuilles redevient un peu moins lent. Le plastochrone est alors de 18 jours, tandis qu'il était de 20 à 25 jours pendant les 8 à 10 premières semaines de vie au froid. (Nous rappelons qu'à 18°-20° C il est égal à 5 à 6 jours pour les rosettes exposées à des journées longues, et à 10 jours pour les rosettes exposées à des journées courtes).

Le retour en serre tiède, à la fin de la réfrigération vernalisante, s'accompagne d'un changement typique du port de la plante aussi bien en conditions de journées courtes (fig. 21) qu'en conditions eupériodiques (fig. 22). En 2 jours à peine, toutes les jeunes feuilles du centre de la rosette se redressent. La figure 22 permet d'apprécier la différence de port entre une plante totalement vernalisée, replacée depuis 6 jours en serre, et une rosette identique réfrigérée depuis 7 semaines; le redressement des feuilles permet de noter l'importante élongation des pétioles. Les premiers entre-nœuds de la tige ne tardent pas à devenir visibles si la plante est exposée à des journées longues.

En conclusion, il faut insister sur le fait suivant : pendant le temps où les plantes, soumises à des alternances rythmiques de températures, préparent leur mise à fleur ultérieure, la croissance végétative continue; néanmoins, l'abaissement de la température ambiante perturbe beaucoup la vitesse de cette croissance et, comme il agit aussi profondément sur le métabolisme des plantes, il s'ensuit une modification remarquable de la morphogenèse. Ainsi, les Onagres, quelle que soit la photopériode à laquelle elles sont alors soumises, acquièrent peu à peu une morphologie particulière. Celle-ci commence à devenir typique à peu près à la fin de la première moitié de la réfrigération vernalisante.

⁂

Les résultats précédemment énoncés permettent de résumer les points qui nous semblent essentiels pour la vernalisation d'*Œnothera biennis* L. var. *sulfurea* de Vries :

1° Cette plante présente le comportement d'une *bisannuelle typique* totalement insensible à une réfrigération trop précoce. Elle doit avoir accompli au tiède une *phase juvénile* pour que les basses températures puissent lui conférer la possibilité de fleurir ultérieurement dans des conditions d'environnement adéquates. Cette phase semble d'ailleurs correspondre davantage à la réalisation d'un certain état de développement végétatif qu'à la nécessité d'une durée minimale de vie préalable au tiède. Notre remarque est en accord avec le fait que *la période juvénile dure plus longtemps en conditions de journées courtes qu'en conditions de journées longues,* car la croissance est plus rapide dans ce dernier cas. C'est pourquoi, pour ce matériel tout au moins, l'observation de la croissance et du développement végétatif des plantes nous semble, comme le propose Chouard, un mode de repérage bien plus

Fig. 21. — Rosettes vernalisées puis exposées en serre à des conditions de journées courtes.
Noter le redressement des feuilles. (Diamètre des pots : 9 cm.)

Fig. 22. — A gauche, plante vernalisée, puis exposée en serre à des conditions eupériodiques.
A droite, plante en cours de réfrigération vernalisante, en conditions de journées longues.
Remarquer la différence de port des deux rosettes. (Diamètre des pots : 15 cm.)

expressif et bien plus valable que l'évaluation (en jours ou en semaines) de l'âge chronologique, comme le font d'autres chercheurs.

2° Une fois la maturité de vernalisation atteinte, une condition est essentielle pour que la réfrigération soit efficace : *une thermopériodicité quotidienne en rapport avec un rythme nycthéméral est absolument indispensable.* De telles alternances de températures permettent à la croissance végétative de se poursuivre à un rythme ralenti.

3° Le besoin de froid des plantes adultes diminue lorsque augmente leur état de développement végétatif, mais il n'est jamais inférieur à un minimum; cela se traduit par le *caractère absolu de l'exigence de réfrigération vernalisante.*

4° Si un éclairement suffisant est donné aux plantes *pendant la réfrigération, la durée relative du jour et de la nuit ne semble pas influencer alors le déroulement de la vernalisation.*

Il importe cependant, pour des raisons de nutrition, que *la période de jour coïncide avec la période la moins froide.*

5° *Une exposition prolongée au froid* s'achève par *l'élongation d'une tige feuillée. Si la plante est soumise à l'eupériode, elle peut même former ses boutons floraux au froid.*

6° Pour être efficace, *l'action des basses températures « alternées » doit se poursuivre d'une manière ininterrompue.*

7° Au cours de la réfrigération, les plantes acquièrent une *morphologie identique et typique.*

Certains caractères fondamentaux mis en évidence ici ne sont pas propres à *Œnothera biennis* L. var. *sulfurea*; ils ont été évoqués à propos d'autres plantes. Toutefois cette plante manifeste des exigences absolues, précises, que nous n'avons jamais encore vu signaler à propos d'autres espèces. Ces particularités suffisent à expliquer la rareté de cette plante dans la nature.

A propos des alternances de températures employées pour nos expériences, nous devons dire qu'elles ont donné des résultats satisfaisants pour notre but, mais elles ne représentent pas nécessairement la meilleure possibilité qui soit.

Nous pouvons aussi nous demander si le facteur essentiel n'est pas le rythme de ces alternances plus que la variation de température par elle-même. Des observations du même type, que nous avons faites à un autre moment de la vie de cette plante, nous feront reprendre ce point dans la discussion.

CHAPITRE II

ESSAIS D'ANALYSE EXPÉRIMENTALE DU MÉCANISME DE LA VERNALISATION D'*ŒNOTHERA BIENNIS* L.

Après avoir précisé les exigences qualitatives et quantitatives propres à *Œnothera biennis* L. pour sa vernalisation, il devient possible d'essayer d'analyser les réactions complexes qui sont engagées ou se déroulent pendant l'exposition aux basses températures.

Plusieurs problèmes se posent alors :

I. — Quelles sont les parties de la plante adulte qui perçoivent le « stimulus » de vernalisation ?

A ce sujet, deux types d'expériences s'imposent :

— d'une part, l'observation de plantes adultes, totalement vernalisées, auxquelles on fait subir des amputations diverses après l'action des basses températures;

— d'autre part, des essais de vernalisation d'organes isolés.

II. — Lorsqu'une réfrigération adéquate a conféré à la plante l'aptitude à la floraison, cette propriété est-elle acquise définitivement ou peut-elle seulement être conservée pendant un temps plus ou moins long ? En d'autres termes, l'action des basses températures aboutit-elle à la formation d'une substance (ou d'un ensemble complexe de facteurs) de floraison, ou encore à la réalisation d'un état stable ou non, « auto-entretenu » ou non, pouvant se révéler ultérieurement au terme d'un quelconque délai lorsque les conditions d'environnement (température, photopériode) le permettent ?

Un moyen de répondre à cette question consiste à maintenir en conditions défavorables à la floraison (dyspériode, par exemple), pendant des durées variables, des plantes sûrement vernalisées puis à les exposer à des conditions favorables. Il suffit alors d'observer si la floraison se produit quel que soit le délai ainsi imposé à son expression.

III. — L'aptitude à la floraison acquise par la vernalisation est-elle *mobile*, c'est-à-dire peut-elle se propager dans la plante et peut-elle être transmise d'un individu à un autre ?

Des décapitations de plantes vernalisées, lors de leur exposition à l'eupériode, des expériences de greffages et enfin des essais d'applications d'extraits de plantes vernalisées à des rosettes non réfrigérées pourront apporter une réponse au moins partielle à cette question.

IV. — La floraison de cette plante brachyblaste s'accompagnant, dans les conditions naturelles, de l'élongation d'une tige feuillée, il est intéressant de connaître la participation des substances de croissance et spécialement celle des substances d'élongation du type gibbérelline au mécanisme de la vernalisation. Autrement dit, élongation caulinaire et floraison sont-elles des processus rigoureusement associés ou non ?

L'application de tels produits aux plantes dans diverses conditions permet de savoir s'ils peuvent remplacer, en totalité ou en partie seulement, le froid dans son action préparatoire à la mise à fleur. Cela peut éventuellement conduire à distinguer plusieurs stades dans les réactions complexes de la vernalisation.

I. — LA CONNAISSANCE DES LIEUX DE PERCEPTION DU STIMULUS DE VERNALISATION

Comme nous l'avons précisé lors de la description de la plante au début de ce mémoire, la floraison, dans les conditions normales, se fait par le bourgeon terminal qui donne naissance à une tige allongée à dominance apicale marquée, dépourvue de ramification latérale.

A. — DIVERS ESSAIS D'AMPUTATION D'ORGANES CHEZ DES PLANTES VERNALISÉES

1° Ablation du bourgeon terminal dès la fin de la réfrigération.

Dix rosettes vernalisées au stade 30e feuille ont été privées de leur bourgeon terminal dès le retour en serre : les plus jeunes feuilles qui restaient (avec leurs bourgeons axillaires) mesuraient 1 cm de longueur. Toutes ces plantes ont fleuri, en conditions eupériodiques, sur deux à trois pousses longues, nées des bourgeons axillaires périphériques les plus proches de la décapitation. Leurs tiges étaient moins hautes (60 à 80 cm) que la hampe florifère unique portée par les plantes témoins (1,10 m en moyenne). L'élongation de ces pousses axillaires a commencé en même temps que l'allongement de la tige des plantes témoins.

2° Ablation des grandes feuilles après vernalisation.

Ces expériences ont porté sur de grosses rosettes, exposées au froid de l'hiver (pendant novembre, décembre, janvier et février) après avoir formé leur 50e feuille en serre et en conditions de journées longues. Lors du retour en serre, on a enlevé toutes leurs grandes feuilles :

seules sont restées, autour du bourgeon terminal, deux à trois petites feuilles longues de 2 à 3 cm.

Les plantes ont fini par fleurir, mais l'élongation de leur tige a débuté plus tardivement que celle des témoins non mutilés (chez ces derniers, les entre-nœuds sont devenus visibles dès le sixième jour suivant le transfert en serre, tandis que les plantes privées de leurs grandes feuilles n'ont commencé à former une petite tige qu'au bout de 12 jours). Enfin, les tiges florifères portées par ces plantes étaient moins hautes que celles des témoins (une soixantaine de cm au lieu de 1 m en moyenne).

B. — LE RÔLE DES DIVERS ORGANES DANS LA PERCEPTION DU STIMULUS DE VERNALISATION

Une série d'essais complémentaires des précédents a permis de savoir dans quelle mesure les différents organes de la plante participent à la perception du stimulus de vernalisation et, en particulier, d'apprécier le rôle des feuilles dans ce processus. Pour cela, nous avons tenté de vernaliser des plantes amputées avant toute réfrigération et même des organes isolés.

1° Essai de vernalisation de rosettes dépourvues de leurs grandes feuilles.

Avant d'exposer au froid hivernal, à partir de novembre, un lot de 15 plantes ayant formé leur 20e feuille et un lot de 15 plantes parvenues au stade 50e feuille, on a enlevé toutes les grandes feuilles des rosettes en ne laissant que le cœur, c'est-à-dire le bourgeon terminal entouré de deux à trois petites feuilles longues de 2 à 3 cm. Ces plantes avaient été cultivées jusqu'alors en serre, en conditions de journées longues. Deux lots de plantes témoins intactes ont subi la même durée de froid en plein air.

Après retour en serre, en conditions eupériodiques, sur les 30 plantes amputées, seules ont fleuri, comme les plantes témoins, 3 rosettes parvenues au stade 50e feuille qui avaient pu allonger 5 à 6 feuilles autour du bourgeon terminal. Toutes les autres plantes sont mortes soit pendant le séjour au froid, soit au retour en serre.

2° Essai de vernalisation de rosettes dépourvues de leur bourgeon terminal.

Cette expérience a donné des résultats identiques à l'ablation du bourgeon terminal à la fin de la réfrigération : plusieurs tiges florifères axillaires (4 à 5) se sont développées sur chaque plante.

3° Essai de vernalisation de parties souterraines isolées.

Quinze grosses rosettes, cultivées en serre et en conditions de journées longues jusqu'à ce qu'elles aient formé leur 60e feuille, ont été décapitées en dessous de toutes les traces d'insertions foliaires (de façon à supprimer toute la partie caulinaire avec les bourgeons axillaires). Les parties souterraines restantes ont été soumises, en pots, à la réfrigération pendant 20 semaines.

Fig. 23. — Rosettes adventives nées en serre sur une souche d'Onagre préalablement réfrigérée.

Pendant le froid, il n'y a pas eu de bourgeonnement. Après retour au tiède, 11 souches (sur 15) n'ont pas formé de bourgeons adventifs. Sur les autres, de petites rosettes adventives (4 à 5 par plante) se sont développées sur la cicatrice; il ne s'est pas formé de cal. La figure 23 montre 4 rosettes ainsi formées; cette photographie a été prise 5 mois après le retour en serre. Nous n'avons observé aucune floraison.

En même temps, nous avons vernalisé, dans les mêmes conditions, un lot identique de plantes entières. Lors du retour en serre, nous avons sectionné toutes leurs parties aériennes. Les bourgeons adventifs régénérés par les souches (dès la deuxième semaine) ont donné naissance à de petites rosettes qui, elles aussi, sont restées végétatives.

4° Essai de vernalisation de bourgeons terminaux isolés.

a) *Technique et plan des expériences.* — Les cultures ont été effectuées, en conditions aseptiques, sur un milieu gélosé (10 g de gélose par litre) contenant du saccharose (20 g/l). Le tableau X indique la teneur en sels de ce milieu.

Tableau X. — Composition du milieu pour la culture de bourgeons terminaux isolés (macro-éléments).

Sels	Quantités (g/l)
$(NO_3)_2Ca$, 4 H_2O	0,288
SO_4Mg, 7 H_2O	0,739
NO_3K	0,080
ClK	0,065
SO_4Na_2	0,200
PO_4H_2Na, H_2O	0,019

Les oligo-éléments étaient préparés et ajoutés selon la formule que propose Heller [28]. Le milieu contenait en outre de la vitamine B_1 (10^{-4} g/l).

Deux séries d'essais ont été effectuées :

— Pour l'une, les bourgeons terminaux ont été prélevés sur des plantes au stade 25e feuille, toujours cultivées en conditions de journées longues en serre. La réfrigération en conditions de journées longues a débuté 48 heures après la mise en culture. Elle a duré 20 semaines.

— Pour l'autre, les bourgeons terminaux ont été pris sur des plantes cultivées en serre et en conditions de journées longues jusqu'à ce qu'elles aient formé leur 45e feuille. La réfrigération a commencé et s'est déroulée comme pour la série précédente.

La figure 24 montre l'aspect du bourgeon d'une plante de la première série immédiatement après sa mise en culture.

Les 50 bourgeons constituant chaque essai ont été répartis en 5 lots :

— 1 lot témoin cultivé sur milieu seul;
— 1 lot cultivé sur milieu + acide β-indolyl-acétique (10^{-5} g/l);
— 1 lot cultivé sur milieu + acide gibbérellique GA_3 (5.10^{-4} g/l);
— 1 lot cultivé sur milieu + adénine (10^{-3} g/l);
— 1 lot cultivé sur milieu + kinétine (10^{-3} g/l).

Le pourcentage de bourgeons à éliminer au cours des expériences (rarement par suite d'infections mais surtout en raison du dessèchement des bourgeons qui ne restaient pas enfoncés dans le milieu de culture) s'est élevé à 30 %.

b) *Résultats.* — Après retour en serre et en conditions eupériodiques, les bourgeons cultivés sur le milieu de culture seul ont donné naissance

à de petites rosettes enracinées, dont les feuilles atteignaient 3 à 5 mm. Des différences dans la rapidité de développement étaient remarquables selon les substances ajoutées au milieu de culture : les plantes les plus grandes étaient celles qui se trouvaient sur milieu $+GA_3$ (certaines rosettes ont formé jusqu'à 6 feuilles vert pâle en lanières longues de

Fig. 24.

Fig. 25.

Fig. 24. — Bourgeon terminal d'Onagre venant d'être mis en culture sur milieu gélosé. (Diamètre du tube : 2,5 cm.)

Fig. 25. — Bourgeon terminal d'Onagre cultivé sur milieu contenant de l'adénine et réfrigéré pendant 20 semaines, puis placé en serre depuis un mois. (Diamètre du tube : 2,5 cm.)

2,5 cm à 3 cm) ; par contre, c'est en présence d'adénine que les racines étaient les plus développées (fig. 25).

Aucune des rosettes que nous avons pu conserver pendant un an (à partir du début de l'essai) après repiquages sur un milieu liquide de composition identique à celle du milieu précédent n'a présenté de signe de mise à fleur.

5° Cas des feuilles isolées.

Nous n'avons pas pu réussir à réfrigérer de grandes feuilles isolées, car les boutures de feuilles (avec leur bourgeon axillaire) que nous avons pu obtenir étaient peu nombreuses (une quinzaine) et n'ont jamais survécu à plus de 3 semaines de réfrigération.

C. — CONCLUSION

Ces expériences suffisent néanmoins à montrer *l'importance de la présence des feuilles pour la perception du stimulus de vernalisation par les bourgeons et, en particulier, par le bourgeon terminal.* Celui-ci, isolé, ne peut percevoir l'efficacité des basses températures. L'apport nutritif que représente une surface assimilatrice formée par une couronne de grandes feuilles lui est indispensable. L'échec des essais de vernalisation de bourgeons isolés, pourtant mis en présence d'une importante quantité de matériaux nutritifs, peut probablement s'expliquer de la manière suivante : le traumatisme que représente la mise en culture aseptique perturbe le fonctionnement normal de l'apex. A cela s'ajoute presque immédiatement (48 heures après) le brusque changement de conditions d'environnement. Il en résulte une modification importante de l'activité plus ou moins rythmique du point végétatif et, lorsque son fonctionnement a enfin repris (au bout de 15 à 16 semaines), on ne peut comparer la croissance qui en résulte à celle qui a lieu lors de la réfrigération de plantes même juste adultes. Le cas présent serait donc bien plus à rapprocher des tentatives infructueuses de vernalisation des plantes lorsque l'alternance de températures coïncide avec un rythme nycthéméral inversé.

Une certaine activité organogène, en relation avec un apport plus ou moins continu de matériaux nutritifs provenant d'autres organes de la plante, est donc nécessaire à la perception du stimulus de vernalisation par le bourgeon terminal.

II. — LA STABILITÉ DE L' « ÉTAT » VERNALISÉ

A. — ACTION DES HAUTES TEMPÉRATURES APRÈS LA RÉFRIGÉRATION

Pour des raisons matérielles, nous n'avons pas pu effectuer d'essais systématiques et contrôlés dans ce domaine.

Toutefois, des observations accidentelles, faites en serre lors de brèves périodes particulièrement chaudes, ont montré que des plantes exposées pendant 3 jours, dès la fin d'une réfrigération sûrement ver-

nalisante, à des températures comprises entre 27° et 36° C (la température maximale ne régnant que pendant une heure par jour environ), ne s'allongent jamais en conditions eupériodiques et ne forment jamais de fleurs.

L' « état » vernalisé se trouve donc perdu par une brève exposition à de hautes températures qui ne sont pourtant pas létales. Pour faire fleurir ces plantes, il a fallu les soumettre à nouveau à une réfrigération complète.

B. — ACTION D'UNE TEMPÉRATURE CONSTANTE APRÈS LA RÉFRIGÉRATION

Comme précédemment, ce sont des observations accidentelles qui ont attiré notre attention sur cette particularité : à plusieurs reprises, nous nous sommes aperçue que des rosettes certainement vernalisées ne formaient jamais de tige florifère lors du retour en serre, malgré un éclairement eupériodique. Il ne s'agissait pas d'exceptions individuelles, mais de lots complets de plantes ayant reçu une réfrigération contrôlée, adéquate, qui ne pouvait être qu'efficace. Nous avons noté une circonstance commune à ces échecs réitérés : dans tous les cas, les rosettes vernalisées étaient transférées en serre, pendant une saison relativement douce et très pluvieuse, à une période où les températures externes variaient peu, de sorte qu'en serre le contrôle de la constance de la température était particulièrement bon. Aucune insolation diurne ne provoquait une élévation de la température, contrairement à ce qui se produit d'habitude au milieu de la journée. Ainsi, les plantes se trouvaient soumises à une température continuellement comprise entre 19° et 21° C.

Nous avons alors effectué à deux reprises l'expérience suivante : 12 plantes ayant formé leur 25e feuille, vernalisées par une réfrigération de 20 semaines en conditions de journées longues, ont été réparties en 2 lots dès la sortie de la chambre froide :

— un lot de plantes témoins était exposé à 20° C d'une manière constante (dans une pièce climatisée du laboratoire) et recevait 16 heures d'éclairement par 24 heures;

— un lot de plantes était soumis pendant 16 heures par 24 heures (période d'éclairement) à 20° C comme les témoins, puis exposé à 16° C pendant 8 heures d'obscurité.

Dans les deux cas, toutes les plantes restant à température constante sont demeurées végétatives; toutes les plantes soumises à une thermopériodicité quotidienne ont commencé à allonger leur tige 5 jours après la sortie de la chambre froide et les fleurs étaient formées au bout d'un mois.

A température constante, l'aptitude à la floraison ne peut s'exprimer et il se produit véritablement une dévernalisation car, si on sou-

met ensuite ces plantes à une thermopériodicité adéquate, la mise à fleur ne se fait pas. La vernalisation acquise par la réfrigération initiale est donc perdue et les plantes, pour fleurir, doivent à nouveau subir un séjour complet au froid.

C. — ACTION D'UNE EXPOSITION AUX JOURNÉES COURTES APRÈS LA RÉFRIGÉRATION

Comme *Œnothera biennis* L. exige absolument des journées longues pour fleurir, il était aisé de contrôler la stabilité de l' « état » vernalisé en soumettant des plantes, dès la fin de la réfrigération et pendant des durées plus ou moins longues, à un éclairement dyspériodique. La floraison ne pouvait ainsi se réaliser immédiatement. Des transferts, à intervalles de temps réguliers, en conditions eupériodiques, devaient permettre de savoir si l'aptitude à la floraison pouvait être conservée et, si oui, pendant quelle durée.

A cet effet, nous avons réalisé plusieurs expériences dont les modalités et les résultats sont figurés dans le tableau XI : tous ces essais ont été effectués avec des rosettes vernalisées en chambre froide, selon le rythme d'alternances de températures habituel et en conditions de

Tableau XI. — Nombre de plantes vernalisées qui fleurissent lorsque l'exposition finale aux journées longues a été précédée par un séjour de durée variable en conditions dyspériodiques.

Stade morphologique atteint par les plantes au début de la réfrigération	Durée de réfrigération (semaines) J. L.	Durée d'exposition aux journées courtes (jours)											
		0	7	9	12	14	15	18	21	24	27	28	35
10e feuille.....	20	10	8			6			0			0	0
20e feuille.....	20	10	10			5			0			0	0
50e feuille.....	13	10		10	8		2	0	0	0			
50e feuille.....	18	10		10	10		10	5	0	0	0		
60e feuille.....	16	10		10	10		10	3	0	0			

« J. L. » signifie « conditions de journées longues ».

journées longues. Au retour en serre, les plantes étaient réparties en plusieurs lots : un lot témoin était toujours exposé immédiatement à l'eupériode, ce qui permettait de contrôler l'efficacité de la réfrigération; les autres lots (10 plantes) étaient tous soumis à un régime d'éclairement dyspériodique (8 heures d'éclairement par 24 heures) pour des durées bien déterminées, au terme desquelles les Onagres étaient transférées en conditions de journées longues.

Des plantes de divers lots restant ainsi en rosettes ont été à nouveau réfrigérées 2 mois après leur transfert en conditions de journées

longues. Des expositions au froid, de durée inférieure au minimum nécessaire pour la vernalisation de plantes parvenues à ce stade morphologique, se sont révélées insuffisantes pour permettre la floraison ultérieure. La dévernalisation est donc totale et le besoin de froid est alors semblable à l'exigence initiale de vernalisation.

L'observation des résultats mentionnés dans le tableau XI montre que :

1° Un séjour relativement court (de l'ordre de 12 à 20 jours) en conditions dyspériodiques à 18°-22° C suffit à faire perdre aux plantes l'aptitude à former leurs fleurs, acquise en un temps 6 à 10 fois plus long.

2° Si la réfrigération a été plus longue que le minimum nécessaire, l' « état » vernalisé persiste plus longtemps.

3° Les plantes les plus jeunes sont — à niveau de vernalisation égal — plus vite dévernalisées que les plantes plus âgées.

D'autre part, nous avons effectué des essais de vernalisation de rosettes exposées à un éclairement dyspériodique pendant la réfrigération (cf. chapitre I, paragraphe II, B, 2°). Nous avons parfois laissé des plantes, en chambre froide, dans ces conditions d'éclairement, plus longtemps que leur vernalisation ne le nécessitait. Nous n'avons jamais constaté que la floraison ultérieure en fût affectée ni dans son expression, ni dans le délai qu'elle mettait ensuite à se manifester. L'action dévernalisante des jours courts ne se fait donc sentir qu'*au tiède*.

Enfin, il nous faut encore signaler deux points importants :

— Lorsque l'exposition à la dyspériode est trop courte pour être dévernalisante, la montaison ultérieure en conditions eupériodiques débute au bout du même laps de temps que dans le cas d'un passage immédiat de la chambre froide aux conditions eupériodiques en serre. En d'autres termes, le retard à la floraison, par rapport aux témoins placés tout de suite en conditions eupériodiques, est égal à la seule durée de l'exposition à la dyspériode.

— Lorsque la durée du séjour en conditions dyspériodiques devient critique, la dévernalisation se manifeste tout à coup.

D. — CONCLUSION

Ces trois types de dévernalisation montrent que l' « *état* » *vernalisé* acquis par une réfrigération adéquate et suffisante *n'est pas stable*.

Il nous semble que, dans les divers cas, ce qui fait perdre totalement, plus ou moins vite, cet « état », n'est pas l'action particulière de tel ou tel facteur de l'environnement alors défavorable à l'expression de la floraison (nous pensons tout spécialement aux journées courtes qui ne sont dévernalisantes qu'au tiède). C'est plus probablement, selon nous, *l'empêchement de l'évolution immédiate vers la réalisation de l'état floral. Ainsi, tout ce qui retarde l'expression de la mise à fleur, toute préparée par la réfrigération préalable, tend à faire perdre l' « état » vernalisé.*

III. — LA PROPAGATION ET LA TRANSMISSIBILITÉ DE L' « ÉTAT » VERNALISÉ

A. — LA PROPAGATION DE L' « ÉTAT » VERNALISÉ DANS LA PLANTE

Dans les conditions naturelles, la plante est monocarpique et sa floraison se fait par le bourgeon terminal.

Les expériences diverses de décapitations décrites dans le paragraphe I de ce chapitre ont montré qu'*à la fin de la réfrigération tous les bourgeons présents possèdent l'aptitude à la floraison* et qu'*ils ne l'expriment pas à cause de l'inhibition par corrélation qu'exerce sur eux l'apex*.

Nous avons aussi effectué des décapitations de plantes vernalisées, ayant commencé à allonger leurs tiges.

Dans un cas, les apex de 10 plantes ont été sectionnés alors que les tiges mesuraient 5 cm de hauteur.

Il en a été de même pour un lot de plantes dont les tiges atteignaient 15 cm et pour un troisième lot présentant des hampes de 25 cm de hauteur.

Dans tous les cas, les décapitations ont provoqué l'allongement de bourgeons axillaires. Les pousses de deuxième ordre, développées alors, se sont donc formées postérieurement à la réfrigération vernalisante; elles ont toutes porté des boutons floraux.

La décapitation de ces rameaux, *dès l'apparition des boutons floraux,* a permis l'élongation de rameaux de troisième ordre qui, eux aussi, ont formé des fleurs.

Nous avons encore décapité ces pousses dès la formation des boutons floraux... et ainsi de suite.

Dans tous les cas, la floraison a été générale jusqu'à ce que la mort des plantes s'ensuive.

Les décapitations successives n'ont pas pu interrompre la mise à fleur alors engagée.

Cela montre que *l'inhibition* exercée par le bourgeon terminal, même lorsqu'il commence à porter une inflorescence, n'a *pas d'action dévernalisante* sur les méristèmes axillaires présents lors de la réfrigération.

Cela prouve aussi que *l'aptitude à la floraison peut se transmettre d'une manière autocatalytique au cours des divisions cellulaires* qui accompagnent les ramifications formées après les décapitations successives.

B. — LA TRANSMISSION DE L' « ÉTAT » VERNALISÉ

1° Expériences de greffages.

Nous avons vu que des travaux importants, effectués par Melchers et Lang [58, 59] sur la Jusquiame noire de race bisannuelle, ont conduit leurs auteurs à l'idée que la vernalisation de cette plante, très semblable à l'Onagre, s'accompagne de l'élaboration d'un facteur mobile, de type hormonal, pouvant être transmis par greffage : la « vernaline ». Nous avons voulu soumettre notre matériel à la même expérimentation. Pour cela, deux sortes de greffes ont été réalisées :

— *des greffes par approche :* deux demi-rosettes aussi semblables que possible étaient accolées l'une à l'autre par les surfaces de section de leurs souches respectives et ainsi maintenues par un lien de raphia. Les bords des sections étaient protégés par du mastic diaphane. Dans chaque moitié de plante, le bourgeon terminal subsistait. Ce type de greffe a principalement servi à des essais de transmission de l' « état » vernalisé d'une plante à une autre;

— *des greffes « en tête » :* le bourgeon terminal de grosses rosettes, porté par un soubassement conique prélevé dans la souche, était enlevé. Dans le creux ainsi formé, on pouvait insérer et maintenir en place, grâce à un mastic diaphane, le bourgeon terminal d'une autre plante, sectionné d'une manière identique. Ces greffes en tête permettaient d'observer le comportement propre du bourgeon terminal isolé de sa plante-mère, mais toujours en relation avec la souche et les grandes feuilles d'une Onagre identique.

Toutes les greffes ont mis en contact des *Œnothera biennis* L. var. *sulfurea*.

Les plantes choisies ont toujours été de grosses rosettes (stade 60e feuille). Les parties vernalisées (désignées par V) ont été prélevées dès la fin de la réfrigération en chambre froide et en conditions de journées courtes. Les plantes non vernalisées (NV) provenaient de cultures en serre, exposées aux journées longues.

Les différentes conditions photopériodiques auxquelles des parties de plantes greffées étaient parfois soumises, étaient réalisées de la manière suivante :

— Dans le cas des greffes par approche, lorsqu'une demi-plante était exposée aux journées longues et l'autre aux journées courtes, le pot contenant les deux rosettes greffées était éclairé pendant 16 heures par 24 heures et une partie de la « plante » était recouverte d'une boîte opaque de 17 à 9 heures.

— Dans le cas des greffes en tête, lorsqu'on voulait que le greffon soit seul exposé aux jours courts, on plaçait les pots en conditions

TABLEAU XII. — EXPÉRIENCES DE GREFFAGES

TYPES DE GREFFES	PLANTES GREFFÉES	PROBLÈMES POSÉS	NOMBRE TOTAL DE GREFFES REPRISES	RÉSULTATS
Par approche.	V 16 h — NV 16 h.	V transmet-elle une « vernaline » à NV ?	8	V fleurit. NV ne fleurit pas. Pas de transmission.
	V 8 h — NV 16 h.	V transmet-elle une « vernaline » à NV ? NV transmet-elle un facteur florigène à V ?	5	Ni V ni NV ne fleurissent. Aucune transmission.
	V 8 h — V 16 h.	Témoin.	3	V 16 h fleurit.
	V 8 h — V 8 h.	Témoin.	5	Pas de floraison.
	NV 16 h — NV 16 h.	Témoin.	7	Pas de floraison.
En tête.	Greffon V 16 h. Porte-greffe NV 16 h.	La greffe permet-elle l'expression de la floraison ?	6	Le greffon V fleurit.
	Greffon NV 16 h. Porte-greffe V 16 h.	La greffe permet-elle l'expression de la floraison ?	3	Floraison par des pousses axillaires de V. Même effet qu'une décapitation.
	Greffon V 8 h. Porte-greffe NV 16 h.	NV transmet-elle un facteur florigène à V ?	3	Pas de floraison. Pas de transmission.
	Greffon NV 16 h. Porte-greffe V 8 h.	V transmet-elle une « vernaline » à NV ? NV transmet-elle un facteur florigène à V ?	2	Pas de floraison. Pas de transmission.
	Greffon V 8 h. Porte-greffe V 16 h.	Témoin.	2	Floraison sur une pousse axillaire du porte-greffe. Elongation du greffon (8 cm) ; pas de floraison du greffon.
	Greffon V 16 h. Porte-greffe V 16 h.	Témoin.	6	Le greffon fleurit.
Témoin sans greffe.	V 16 h avec bourgeon terminal en 8 h.	Témoin.	10 plantes.	Elongation du bourgeon terminal (20 cm). Pas de floraison.

cupériodiques et on coiffait le bourgeon terminal, de 17 à 9 heures, d'un petit cône de tissu noir, ou d'un cylindre de papier noir en cas d'allongement caulinaire. Lorsque le greffon seul était soumis aux jours longs, les greffes étaient éclairées pendant 16 heures par 24 heures, mais la périphérie de la rosette était couverte de 17 à 9 heures par une collerette de tissu noir, le bourgeon terminal seul émergeant par un petit orifice ménagé à cet effet.

Le tableau XII résume les types de greffes effectués et les résultats obtenus.

L'observation des résultats et les contrôles anatomiques effectués en fin d'expériences montrent que, chez *Œnothera biennis* L., il est assez difficile d'obtenir une reprise des greffes (plus de 50 % d'échecs), en particulier lorsqu'une des deux parties est soumise à une condition dyspériodique réalisée par l'application de capuchons sur les plantes et lorsque le porte-greffe (dans le cas de greffes en tête) est une plante vernalisée, donc ne possédant que peu de feuilles.

Toutefois, dans les conditions de nos expériences, nous n'avons *jamais* obtenu une transmission de l' « état » vernalisé d'une Onagre à une autre. Ce n'est d'ailleurs que dans quelques cas particuliers (Jusquiame noire de race bisannuelle, Betterave) que l'aptitude à la floraison a pu être communiquée à des individus non réfrigérés.

2° Essais de transmission de l'aptitude à la floraison par l'application d'extraits de plantes en fleurs.

Nous avons essayé de transmettre l' « état » vernalisé et la capacité de mise à fleur en appliquant des « extraits » de feuilles d'Onagres en fleurs à douze plantes en rosettes (stade 30e feuille) jamais réfrigérées et exposées à un éclairement de jours longs, d'une part, et à douze plantes identiques vernalisées par le froid hivernal et placées en conditions dyspériodiques, d'autre part.

La technique de préparation des « extraits » contenant éventuellement un « facteur de floraison » était exactement celle qui a été mise au point par Lincoln, Mayfield et coll. [52].

Nous n'insisterons pas, car tous les résultats ont été négatifs.

Nous n'avons donc pas pu mettre en évidence, par nos expériences, un facteur (de nature hormonale par exemple) pouvant communiquer d'une plante à une autre l'aptitude à fleurir qui, pourtant, se transmet de cellule à cellule lors des mitoses.

IV. — LA PLACE DE LA PRÉPARATION A L'ÉLONGATION DANS LA VERNALISATION ET LE REMPLACEMENT ÉVENTUEL DU FROID PAR LA GIBBÉRELLINE

L'acquisition de l' « état » vernalisé par une rosette commence à se manifester en conditions eupériodiques par la formation et l'élongation d'entre-nœuds caulinaires. Ce changement brusque dans le port de la plante ne se produit jamais dans les conditions naturelles tant que la rosette n'a pas subi l'action des basses températures, et il est alors immanquablement lié à la mise à fleur. Il est donc logique de supposer que le deuxième processus peut être uniquement la conséquence du premier. De là découle l'idée que la vernalisation consiste peut-être, pour une plante brachyblaste, en l'acquisition d'un « facteur d'élongation » absent jusqu'alors et nécessaire à la floraison.

L'application de gibbérelline à des plantes bisannuelles en rosette semble donc permettre de savoir ce qu'il en est.

A. — ESSAI DE REMPLACEMENT TOTAL DU FROID PAR LA GIBBÉRELLINE

1° Précisions techniques.

L'acide gibbérellique (que nous désignerons par la suite par GA_3) était employé en solution aqueuse et il s'agissait de la substance préparée par la firme Merck (lot 57 R 65).

L'emploi d'une solution alcoolique (éthanol à 50°) a été rejeté, car il a entraîné des brûlures des limbes foliaires ou des nécroses du bourgeon terminal.

Tous les traitements ont consisté en dépôts d'un volume connu (mesuré à la micropipette) de solution aqueuse de concentration connue (en général 10^{-4} g/ml) sur le bourgeon terminal de la plante; les plantes témoins recevaient alors un volume identique d'eau distillée.

Au début de nos essais, nous avons comparé l'application de GA_3 sur le limbe d'une grande feuille bien repérée et sur le bourgeon terminal. Nous avons préféré cette dernière façon de faire pour plusieurs raisons :

1° Les résultats sont bien reproductibles alors qu'ils ne le sont pas d'une façon satisfaisante si on dépose le produit sur la feuille.

2° Si on dépose les gouttes de GA_3 sur le limbe, l'effet est moins généralisé et on obtient principalement une élongation de la feuille traitée. Une même dose déposée en une seule fois sur le bourgeon terminal produit une élongation caulinaire toujours supérieure et moins variable (tableau XIII).

Il semble donc que les gouttes de solution de gibbérelline pénètrent mieux lorsqu'elles sont déposées sur l'épiderme mince des jeunes feuilles du bourgeon terminal; l'action est aussi plus intense parce qu'ainsi la substance agit directement sur les tissus méristématiques.

Tableau XIII. — Données numériques permettant de comparer deux modes d'application de l'acide gibbérellique (GA_3) aux plantes : 2 lots de 10 plantes en rosette (parvenues au stade 85e feuille, en serre et en conditions de journées longues) ont reçu une application unique de 200 µg de GA_3. Les grandeurs mesurées l sont les longueurs définitives des tiges formées après le traitement.

Mode d'application de GA_3	Grandeurs mesurées l (cm)	Moyenne $\bar{x}$	Ecart-type σ_x	Coefficient de variation C. V.
Sur la 80e feuille.	5,1 6 4,8 5,5 4,5 5,6 4,5 6,3 5,2 6,5	5,4	0,70	13 %
Sur le bourgeon terminal.	9,8 10,5 10 9,6 10 9,5 9,8 10,2 9 10	9,8	0,41	4 %

2° *Expériences et résultats.*

Des quantités connues d'acide gibbérellique ont donc été appliquées à des lots (de 10 plantes chacun) de rosettes non réfrigérées parvenues à un stade morphologique bien déterminé et placées soit en conditions de journées courtes, soit en conditions de journées longues en serre (à 18°-22° C).

Pendant les expériences, les plantes traitées étaient arrosées soigneusement sur la terre du pot, de façon à ne pas entraîner la substance déposée.

Le tableau XIV rapporte les essais effectués et les résultats obtenus.

Ce tableau montre que :

1° L'élongation caulinaire est d'autant plus grande que la dose de GA_3 est plus grande, mais elle atteint *très vite une limite.*

2° Une certaine quantité de GA_3 (appliquée dans des conditions identiques) produit en général une élongation un peu plus importante en conditions de journées longues que sous des photopériodes courtes.

3° Les plantes plus âgées sont plus sensibles à GA_3 que les plus

Tableau XIV. — Action de diverses doses de GA_3 sur des plantes non réfrigérées

Stade morphologique atteint par les plantes	Conditions photo-périodiques	Quantité de GA_3 appliquée à chaque fois (µg)	Fréquence des traite-ments	Quantité totale de GA_3 appliquée (µg)	Longueur de la tige formée (cm)
10e feuille.	J. C.	50	1/sem.	500	7
	J. L.	50	1/sem.	500	10
20e feuille.	J. C.	50	1/sem.	50 100 150	5 5 6
	J. L.	50	1/sem.	50 100 150	6 6 8
55e feuille.	J. C.	50	1/sem.	50 100 150	7 8 13
		10	1/jour.	300	5
	J. L.	50	1/sem.	50 100 150	12 12 13
		10	1/jour.	300	6
85e feuille.	J. L.	10	1/jour.	200	10

« J. L. » signifie « conditions de journées longues ».
« J. C. » signifie « conditions de journées courtes ».

jeunes moins développées car, pour une même dose de GA_3, la tige formée est plus haute et le délai de réaction est plus bref (l'élongation commence au bout de 2 semaines chez les plantes aux stades 55e feuille et 85e feuille, alors qu'elle ne débute qu'au bout de 3 semaines chez les plus jeunes).

4° L'application hebdomadaire de doses assez fortes produit une élongation plus importante qu'une même quantité donnée par petites

doses quotidiennes. Chez *Œnothera biennis* L., 50 µg représentent la dose maximale qui puisse être donnée en une seule application sans provoquer une nécrose du bourgeon terminal.

5° De toute manière, l'élongation ainsi obtenue par les doses maximales que peut supporter la plante, reste toujours très faible si on la compare à celle de la tige que forme une plante vernalisée et fleurissant dans des conditions normales.

6° *Les plantes traitées, cultivées en serre et non réfrigérées, ne présentent jamais de signe de mise à fleur.*

Fig. 26. — A gauche, plante toujours tenue en serre, en conditions de journées courtes et ayant reçu, 5 mois avant la photographie, une application de 200 µg d'acide gibbérellique sur le bourgeon terminal. A droite, plante témoin non traitée. (Hauteur du pot : 9 cm.)

La morphologie des plantes soumises à ces expériences est typique : dès les premières applications de GA_3, bien avant le début de l'élongation caulinaire, les jeunes feuilles se redressent comme celles des plantes vernalisées lors du passage au tiède. Les limbes et surtout les pétioles s'allongent. Leur couleur devient vert pâle. Des doses élevées (500 µg) arrivent à produire chez les jeunes feuilles des inégalités de croissance qui se traduisent par un aspect gaufré. Le rythme d'apparition des jeunes feuilles devient, aussi bien en conditions de journées courtes qu'en conditions de journées longues, voisin de celui des plantes vernalisées placées au tiède en conditions eupériodiques (plastochrone compris entre 36 et 48 heures).

Une fois l'élongation caulinaire maximale atteinte, l'évolution morphologique des plantes est la suivante : les feuilles que portent les

tiges ainsi formées, tombent rapidement ainsi que les vieilles feuilles de la rosette qui avaient pu persister jusqu'alors. Le rythme de fonctionnement du bourgeon terminal ralentit pour redevenir égal à celui des plantes témoins non traitées. De nouveaux entre-nœuds ne se forment plus et cette partie caulinaire épaissie porte une rosette perchée (fig. 26). Jamais, en aucun cas, n'apparaît une fleur.

Si on ajoute encore de l'acide gibbérellique à des plantes chez lesquelles l'élongation maximale est atteinte, cela est sans autre effet que l'épaississement de la tige précédemment formée; ses couches superficielles peuvent d'ailleurs finir par éclater longitudinalement, le cylindre central se trouve, ainsi, mis à nu. La comparaison de coupes transversales effectuées dans des tiges en cours d'épaississement et de coupes effectuées dans des tiges de plantes témoins permet de comprendre ce qui se passe : sous l'action de GA_3, il se produit un développement de la couche subéreuse, en même temps qu'une forte croissance en épaisseur du xylème. L'activité phellogène est d'ailleurs souvent irrégulière : à un même niveau, il se forme de véritables lentilles subéreuses au niveau desquelles l'éclatement peut se produire comme une simple conséquence mécanique de cet épaississement local.

B. — ESSAI DE REMPLACEMENT PARTIEL DU FROID PAR LA GIBBÉRELLINE

Nous avions prévu trois combinaisons possibles des actions des basses températures et de l'acide gibbérellique :

a) l'application aux plantes d'une certaine dose de GA_3 avant toute réfrigération, puis un séjour au froid d'une durée inférieure ou, au plus, égale à la durée minimale nécessaire pour la vernalisation;

b) l'application aux plantes d'une quantité connue de GA_3 pendant une exposition aux basses températures de durée variable inférieure ou, au plus, égale au minimum nécessaire pour la vernalisation;

c) la réfrigération de plantes pendant une durée insuffisante pour leur vernalisation puis, dès le retour en serre, l'application aux plantes de quantités connues de GA_3.

Malheureusement, les expériences du type a et b n'ont jamais été menées à bien, car les plantes caulescentes *(a)* périssent vite pendant l'action des basses températures (même selon l'alternance $+11°$ C $+ 3°$ C), et les rosettes traitées par GA_3 pendant la réfrigération *(b)* perdent leurs feuilles sans en former de nouvelles suffisamment vite.

Pour l'instant, seules des expérimentations du type *c* ont donné

des résultats valables qui laissent d'ailleurs supposer que les expériences *a* et *b* auraient surtout une valeur d'expériences témoins.

Trois séries d'expériences ont été effectuées avec des plantes ayant formé en serre leur 10e feuille et cultivées jusque-là en conditions de journées longues.

La réfrigération a été donnée, dans tous les cas, en conditions de journées courtes, selon le rythme d'alternances de températures habituel.

Au retour au tiède, le groupe de plantes a été partagé en lots de 8 individus chacun. A chaque fois, un lot de 8 rosettes témoins était exposé à des journées courtes, et un lot identique à des journées longues : les plantes de ces deux derniers lots ne recevaient jamais de GA_3. Les autres lots étaient répartis sous ces deux photopériodes et toutes les plantes commençaient à recevoir, dès le jour du transfert en serre, 10 µg par jour d'une solution aqueuse de GA_3 déposés sur le bourgeon terminal.

Le tableau XV donne le plan des diverses combinaisons de froid et de GA_3 qui ont été ainsi réalisées et étudiées.

Tableau XV. — Plan des expériences montrant l'action combinée du froid et de GA_3 sur des plantes en rosettes au stade 10e feuille

Durée de réfrigération préalable J. C.	Conditions photopériodiques en serre	Quantité totale de GA_3 appliquée (µg)						
		0	30	60	90	120	150	180
7 semaines.	J. C.	T	Lot 1.	Lot 2.	Lot 3.	Lot 4.	Lot 5.	
	J. L.	T	Lot 1.	Lot 2.	Lot 3.	Lot 4.	Lot 5.	Lot 6.
9 semaines.	J. C.	T		Lot A.			Lot B.	
	J. L.	T		Lot A.			Lot B.	
12 semaines.	J. C.	T	Lot 1.	Lot 2.	Lot 3.	Lot 4.	Lot 5.	
	J. L.	T	Lot 1.	Lot 2.	Lot 3.	Lot 4.	Lot 5.	Lot 6.

« J. L. » signifie « conditions de journées longues ».
« J. C. » signifie « conditions de journées courtes ».

Les 3 tableaux suivants (XVI, XVII, XVIII) montrent l'évolution de l'allongement des entre-nœuds dans ces divers cas et précisent s'il y a eu ou non floraison. Les figures 27, 28, 29 et 30 traduisent ces résultats.

TABLEAU XVI. — ELONGATION CAULINAIRE MOYENNE (cm) ET OBSERVATION DE LA MISE A FLEUR DE PLANTES SOUMISES A 7 SEMAINES DE RÉFRIGÉRATION DÈS LA FORMATION DE LEUR 10e FEUILLE, PUIS RECEVANT, LORS DU RETOUR EN SERRE, DES DOSES VARIABLES DE GA_3. (Lots 8 plantes.)

CONDITIONS PHOTO-PÉRIO-DIQUES LORS DU RETOUR EN SERRE	LOTS Nos	DOSE TOTALE DE GA_3 REÇUE (µg)	NOMBRE DE JOURS ÉCOULÉS DEPUIS LE DÉBUT DU TRAITEMENT											NOMBRE DE PLANTES QUI FLEU-RISSENT
			15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	
Journées longues.	T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	30	1,5	2,3	2,6	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	0
	2	60	1,6	2,6	2,9	3,5	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	0
	3	90	2	2,7	3	3,5	3,9	4	4	4	4	4	4	0
	4	120	2,5	3,2	3,5	4,1	4,9	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	0
	5	150	2,5	4,3	5,8	7,8	8,9	9,4	9,7	10,5	11,6	15	18	8
	6	180	2,5	4,7	6,2	8,3	9,8	11	12,9	15,8	17,9	20	25	8
Journées courtes.	T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	30	1,5	2,3	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	0
	2	60	1,5	2,7	2,7	3	3,3	3,7	3,7	3,7	3,7	3,7	3,7	0
	3	90	1,5	2,7	3	3,3	3,6	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9	0
	4	120	1,5	3,1	3,6	3,7	4,3	5,2	6,4	7,2	7,2	7,2	7,2	0
	5	150	1,5	3,1	4,3	5,8	7,9	9,3	10,1	10,4	10,5	10,5	10,5	0

TABLEAU XVII. — ELONGATION CAULINAIRE MOYENNE (cm) ET OBSERVATION DE LA MISE A FLEUR DE PLANTES SOUMISES A 9 SEMAINES DE RÉFRIGÉRATION DÈS LA FORMATION DE LEUR 10e FEUILLE, PUIS RECEVANT, LORS DU RETOUR EN SERRE, DES DOSES VARIABLES DE GA_3. (Lots de 8 plantes.)

CONDITIONS PHOTO-PÉRIODIQUES LORS DU RETOUR EN SERRE	LOTS	DOSE TOTALE DE GA_3 REÇUE (µg)	NOMBRE DE JOURS ÉCOULÉS DEPUIS LE DÉBUT DU TRAITEMENT									NOMBRE DE PLANTES QUI FLEU-RISSENT
			10	15	20	25	30	35	40	45	50	
Journées longues.	A	60	3	4,5	10	13,5	14	15,5	16	17,5	20,5	5
	B	150	4,5	11	17	22,5	28	33,5	40	46	50,2	8
Journées courtes.	A	60	3	5,5	7,5	8,5	9	9,2	9,2	9,2	9,2	0
	B	150	3,5	6,5	10,5	14	15,5	16,5	16,5	16,5	16,5	0

Nous voyons que :

1° *La réponse des plantes est bien plus précoce que dans les cas de traitement par GA_3 de plantes non réfrigérées.* Elle commence à se manifester toujours au même moment sous les deux photopériodes étudiées. Le début de l'élongation est, pour une même dose de GA_3, d'autant plus précoce que la réfrigération a duré plus longtemps : il

Tableau XVIII. — Elongation caulinaire moyenne (cm) et observation de la mise a fleur puis recevant, lors du retour en serre, de

Conditions photo-périodiques lors du retour en serre	Lots	Dose totale de GA_3 reçue (µg)	Nombre de jours écoul							
			5	10	15	20	25	30	35	40
Journées longues.	T	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	30	1,1	3,4	5,8	8	8,4	8,8	8,9	8,9
	2	60	1,2	4,9	8,1	10,1	12,3	14,2	15,3	16,8
	3	90	1,1	5,5	12,9	16,4	19,1	21,6	23,9	27,3
	4	120	1,1	5,4	13	16,9	19,8	22,3	24,8	28,3
	5	150	1,1	5,4	13,5	17,2	20,5	24,1	26	28,8
	6	180	1,2	5,5	13,5	18,3	23	27,3	30,8	34
Journées courtes.	T	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	30	1,1	3	5,6	7,3	8	8,7	8,7	8,7
	2	60	1,1	3,5	6,4	9	10,6	12,3	13,3	14,5
	3	90	1,1	3,7	8	11,7	14	16	17,2	18,3
	4	120	1,1	3,7	9,2	12	14,5	16,6	18,1	19,8
	5	150	1,1	3,7	9,4	12,7	15,2	18	19,5	20,8

se produit au bout de 14 jours si la réfrigération a duré 7 semaines, au bout de 6 jours pour 9 semaines de froid, et dès le cinquième jour pour 12 semaines de froid. Il y a donc, pendant l'action des basses

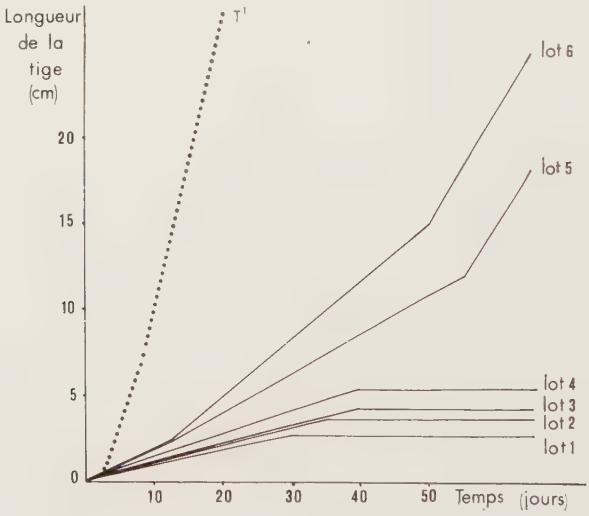


Fig. 27. — Evolution de l'élongation de la tige d'Onagres réfrigérées pendant 7 semaines puis recevant, lors du retour en serre, en conditions eupériodiques, des doses variables de GA_3. (Doses totales de GA_3 reçues : lot 1, 30 µg; lot 2, 60 µg; lot 3, 90 µg; lot 4, 120 µg; lot 5, 150 µg; lot 6, 180 µg.)

La courbe en pointillé *(T')* permet de faire une comparaison avec la croissance de la tige d'une plante semblable, normalement vernalisée par 17 semaines de réfrigération, puis placée, lors du retour en serre, en conditions eupériodiques.

DE PLANTES SOUMISES A 12 SEMAINES DE RÉFRIGÉRATION DÈS LA FORMATION DE LEUR 10e FEUILLE, DOSES VARIABLES DE GA_3. (Lots de 8 plantes.)

DEPUIS LE DÉBUT DU TRAITEMENT												NOMBRE DE PLANTES QUI FLEURISSENT
45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	0
18,7	19,3	20,5	21,8	23,2	24,8	26,2	26,8	27,7	30,5	31,9	33	8
30,8	34,3	36,9	39,5	42,2	43,4	44,5	45,6	47,4	50,5	54,5	56	8
31,8	34,7	36,9	39,5	42,6	43,4	44,2	45,8	47,2	50,5	54,3	56,1	8
32	35,3	38,6	40,8	42,4	43,5	44,3	46	47,3	51	54,5	56,8	8
36,5	40,1	43,2	45,1	47,3	48,8	49,8	50	51	55	57,5	58,9	8
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	0
14,7	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8	0
19,1	19,9	19,9	19,9	19,9	19,9	19,9	19,9	19,9	19,9	19,9	19,9	0
20,2	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	0
21,9	22,5	22,7	22,7	22,7	22,7	22,7	22,7	22,7	22,7	22,7	22,7	0

températures, formation de substances de croissance qui ne peuvent encore agir seules mais peuvent agir en synergisme avec GA_3. La synthèse de ces substances (ou l'achèvement de celle-ci) a lieu principalement dans la seconde moitié du séjour au froid.

2° *L'élongation se fait moins vite en conditions de journées courtes qu'en conditions eupériodiques.* La hauteur maximale de la tige formée

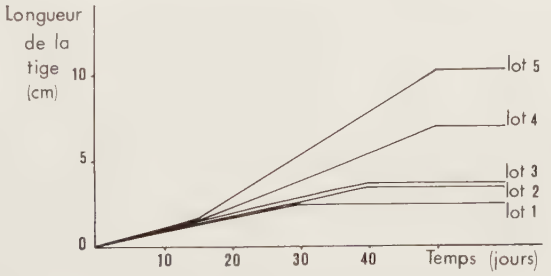


FIG. 28. — Evolution de l'élongation de la tige d'Onagres réfrigérées pendant 7 semaines puis recevant, lors du retour en serre, en conditions dyspériodiques, des doses variables de GA_3. (Doses totales de GA_3 reçues : lot 1, 30 µg; lot 2, 60 µg; lot 3, 90 µg; lot 4, 120 µg; lot 5, 150 µg.)

est inférieure en conditions de journées courtes à celle qui résulte de l'application d'une même dose de GA_3 en conditions eupériodiques, mais la différence est assez faible.

3° *La dose de GA_3 nécessaire à la mise à fleur est d'autant plus faible que les plantes ont été plus longtemps soumises aux basses températures.* Des rosettes exposées au froid pendant 7 semaines doivent

recevoir une quantité de GA_3 supérieure à 120 µg et inférieure ou égale à 150 µg de GA_3. Si elles sont restées 9 semaines en chambre froide, une quantité de GA_3 voisine de 60 µg suffit à faire fleurir 60 % des

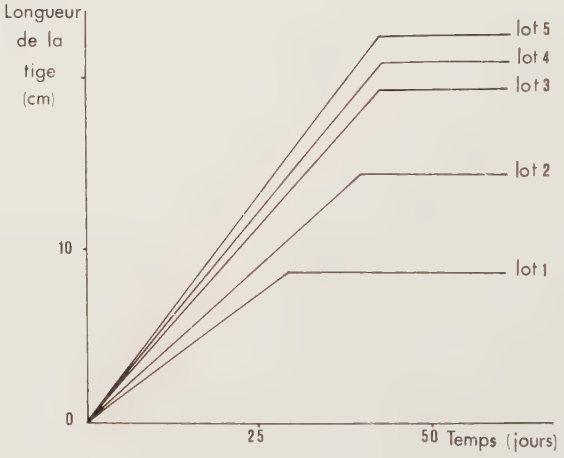
Fig. 29.

Evolution de l'élongation de la tige d'Onagres réfrigérées pendant 12 semaines puis recevant, lors du retour en serre, en conditions eupériodiques, des doses variables de GA_3. (Doses totales de GA_3 reçues : lot 1, 30 µg; lot 2, 60 µg; lot 3, 90 µg; lot 4, 120 µg; lot 5, 150 µg; lot 6, 180 µg.)

La courbe en pointillé *(T')* permet de faire une comparaison avec la croissance de la tige d'une plante semblable, normalement vernalisée par 17 semaines de réfrigération, puis placée, lors du retour en serre, en conditions eupériodiques.

Fig. 30.

Evolution de l'élongation de la tige d'Onagres réfrigérées pendant 12 semaines puis recevant, lors du retour en serre, en conditions dyspériodiques, des doses variables de GA_3. (Doses totales de GA_3 reçues : lot 1, 30 µg; lot 2, 60 µg; lot 3, 90 µg; lot 4, 120 µg; lot 5, 150 µg.)



plantes traitées. Enfin, si elles ont été réfrigérées pendant 12 semaines, la dose de GA_3 suffisante est comprise entre 30 et 60 µg.

L'acide gibbérellique n'intervient pas quantitativement dans la mise à fleur : on ne relève aucune influence sur le nombre de fleurs formées. Néanmoins, pour une quantité donnée de GA_3, les tiges des plantes

Fig. 31. — Plantes réfrigérées pendant 12 semaines, puis traitées par des doses variables d'acide gibbérellique, en serre, en conditions eupériodiques.
A droite, plante témoin réfrigérée mais non traitée puis, de droite à gauche, plantes ayant reçu respectivement 30, 60, 90, 120, 150 et 180 µg de GA_3. (Hauteur des pots : 9 cm.)

Fig. 32. — Plantes réfrigérées pendant 12 semaines puis traitées par des doses variables d'acide gibbérellique, en serre, en conditions dyspériodiques.
A droite, plante témoin réfrigérée mais non traitée puis, de droite à gauche, plantes ayant reçu respectivement 30, 60, 90, 120 et 150 µg de GA_3. (Hauteur des pots : 9 cm.)

qui fleurissent sont un peu plus grandes si les plantes ont reçu plus de GA_3 qu'il n'en était nécessaire pour la mise à fleur.

4° *Enfin, les tiges formées sont toujours moins longues que celles des plantes complètement vernalisées par une réfrigération suffisante.*

La morphologie des plantes soumises à ces expériences est caractéristique : les tiges formées perdent rapidement la plupart des feuilles qu'elles portent; seules persistent celles qui entourent le bourgeon terminal. Cette abscission précoce aboutit à la formation de rosettes perchées s'il s'agit de plantes ne fleurissant pas. Les feuilles de ces rosettes peuvent devenir très longues (elles peuvent atteindre 24 cm). Les figures 31 et 32 montrent l'aspect des plantes réfrigérées pendant 12 semaines puis traitées par GA_3.

Une dernière expérience a été faite, non dans le but d'une analyse directe du processus de vernalisation, mais en vue d'un contrôle de l'inefficacité totale de GA_3 comme agent de floraison. Comme cette expérience permet de comprendre plus complètement l'action de cette substance, nous la décrirons brièvement ici.

Trente-deux plantes vernalisées (alors qu'elles avaient formé leur 55e feuille) par 12 semaines d'exposition au froid en conditions de journées longues, ont été réparties en 4 lots dès le retour en serre :

— 1 lot de plantes témoins placées en conditions eupériodiques;

— 1 lot de plantes témoins placées en conditions dyspériodiques;

— 2 lots de plantes (exposés l'un à 16 heures d'éclairement par 24 heures, l'autre à 8 heures d'éclairement par 24 heures) recevant, dès le retour au tiède, 10 µg de GA_3 par jour pendant 30 jours.

Les plantes témoins placées en conditions eupériodiques ont commencé à présenter des entre-nœuds visibles au bout de 17 jours et ont fleuri sur des hampes de 1 mètre de hauteur (l'inflorescence comprenant une quinzaine de fleurs mesurait une vingtaine de cm).

Les plantes traitées par GA_3 en conditions eupériodiques ont commencé à présenter des entre-nœuds visibles dès le cinquième jour. Leurs tiges, en fin d'expérience, mesuraient en moyenne 1,45 m (les inflorescences, longues de 50 cm, portaient une trentaine de fleurs).

Au bout de 6 jours, les plantes traitées en conditions dyspériodiques ont commencé à former leurs tiges. Celles-ci ont atteint 55 cm de haut et, au bout de 45 jours, elles portaient des rosettes perchées, les plus hautes que nous n'ayons jamais observées. Les témoins n'ayant pas reçu de GA_3 restaient en rosettes.

Nous rappelons (cf. tableau XIV) que les tiges formées par application de 300 µg de GA_3 (à raison de 10 µg/jour) à des plantes au stade 55e feuille et jamais réfrigérées, n'ont jamais dépassé 5 cm de hauteur en conditions de journées courtes et 6 cm si elles étaient exposées à des journées longues.

Cela montre qu'il y a une *grande action synergique entre l'acide gibbérellique exogène et les substances de croissance endogènes formées au cours du traitement vernalisant.*

Lorsqu'il y a floraison en conditions eupériodiques, cette action synergique s'accompagne d'une augmentation du nombre de fleurs formées. *Mais, en aucun cas, GA_3 ne peut provoquer la mise à fleur en conditions dyspériodiques.*

C. — CONCLUSION

En conclusion, nous pouvons dire que :

— *l'acide gibbérellique est une substance de croissance certainement différente des « gibbérellines » naturelles, mais pouvant agir d'une manière synergique avec elles;*

— *l'acide gibbérellique peut participer indirectement à l'expression de la floraison, mais ne peut en aucun cas être un facteur de floraison* pour *Œnothera biennis* L. var. *sulfurea*. Il ne peut remplacer ni le froid dans son rôle préparatoire à la mise à fleur, ni la photopériode comme agent réalisateur de celle-ci. Il peut seulement remplacer partiellement le froid dans son rôle préparatoire à l'élongation.

⁂

En ce qui concerne l'analyse des mécanismes de la vernalisation chez *Œnothera biennis* L. var. *sulfurea*, les expériences qui composent ce chapitre permettent d'acquérir les notions suivantes :

1° Cette plante doit être parvenue à un certain état de développement végétatif pour que les basses températures puissent lui conférer l'aptitude à fleurir ultérieurement. Dans les circonstances normales, c'est le bourgeon terminal qui manifeste la perception du « stimulus » de vernalisation, mais, en fait, tous les tissus des méristèmes primaires de la plante le perçoivent aussi. Pour que cela se produise, la présence des feuilles est toutefois nécessaire. Leur rôle est peut-être purement trophique, car elles assurent un afflux continu de matériaux nutritifs au bourgeon terminal dont le fonctionnement n'est que ralenti pendant la vie au froid.

2° La préparation à la mise à fleur ne se matérialise pas par la synthèse d'une substance transmissible dans les conditions de nos expérimentations. Elle consiste plutôt en ce que nous ne pouvons qu'appeler une « propriété » particulière qu'acquièrent et que peuvent transmettre par mitose les cellules des tissus méristématiques primaires.

Cette « propriété » peut être conservée à de basses températures mais, au tiède, elle n'est pas stable très longtemps et, en particulier, des températures élevées mais non létales, ou l'absence d'une thermopériodicité adéquate, l'annihilent en 2 ou 3 jours. Enfin, lorsque des plantes sont soumises, depuis un laps de temps de l'ordre de 2 à 3 semaines, à un rythme d'éclairement défavorable à l'expression de leur aptitude à fleurir, cette dernière disparaît soudain définitivement.

3° La réfrigération vernalisante confère aussi à cette plante brachyblaste l'aptitude à l'élongation. Dans les conditions expérimentales choisies, c'est au cours de la deuxième moitié du traitement que se trouvent formées les substances naturelles de croissance qui en sont responsables. Leur synthèse est distincte de la préparation à la floraison. Cette dernière est beaucoup plus précoce et, une fois qu'elle est achevée, un apport de gibbérelline exogène peut suppléer à l'action finale du froid et permettre la floraison *en conditions eupériodiques.*

Le double rôle des basses températures se traduit donc par *deux processus* dont *l'expression* dans les conditions naturelles est *simultanée.* Mais *l'acquisition de l'aptitude à la floraison est distincte de la préparation à l'élongation et celle-là est atteinte avant celle-ci;* toutefois la quantité de substances de croissance présentes agit comme facteur limitant de l'expression florale.

Enfin, à l'effet propre du froid sur la préparation à la floraison, succède, pour la réalisation des fleurs, une action propre des journées longues; celle-ci ne peut être remplacée par une augmentation de la quantité de substances d'élongation présentes.

CHAPITRE III

STRUCTURE ET ÉVOLUTION DE L'APEX D'*ŒNOTHERA BIENNIS* L. AU COURS DU TRAITEMENT RÉFRIGÉRANT ET APRÈS VERNALISATION

Les expériences portant sur la durée de réfrigération nécessaire pour vernaliser les plantes ont permis de remarquer les transformations morphologiques subies par les rosettes pendant ce traitement décisif pour leur reproduction. Il était alors intéressant de suivre l'évolution de la structure et du fonctionnement de l'apex des plantes au cours de cette période préparatoire à la mise à fleur, puis d'observer les changements essentiels qui accompagnent la réalisation de celle-ci.

I. — TECHNIQUES UTILISÉES ET PLAN DE L'EXPÉRIENCE

Nous avons employé les techniques de l'histologie classique (Langeron [49]) : la fixation, faite au mélange de Helly, a été suivie de la déshydratation, de l'imprégnation, puis de l'inclusion. Des coupes de 4 μ d'épaisseur ont été effectuées au microtome, puis soumises à la réaction nucléale de Feulgen après coloration de fond par le vert lumière.

Les plantes retenues pour cette étude ont été cultivées en serre tiède et en conditions de journées longues jusqu'à ce qu'elles aient formé leur 45e feuille.

Elles ont été réparties en plusieurs lots :

1° Un lot de plantes témoins non réfrigérées.

2° Trois lots de plantes réfrigérées selon le rythme nycthéméral d'alternances de températures habituel, et éclairées pendant 16 heures par 24 heures. Des observations antérieures nous ont poussée à choisir trois stades particuliers :

a) le moment où les rosettes ont perdu toutes leurs feuilles ovales à longs pétioles et ne présentent plus que des feuilles d'aspect typique : pétioles courts, tordus, limbes larges, plus ou moins gaufrés, ponctués de rouge. Cette morphologie caractéristique des plantes au froid est acquise vers la huitième semaine de traitement (cf. chapitre I, paragraphe III). Un lot d'apex a donc été fixé à la fin de la huitième semaine de séjour en chambre froide;

b) le moment où l'aptitude à la floraison étant acquise, la préparation à l'élongation indispensable est achevée, en d'autres termes, la fin de la réfrigération vernalisante. Nous savons par les expériences précédemment décrites que, pour des plantes parvenues à ce stade morphologique, elle est atteinte à la treizième semaine de traitement (cf. tableau IV). Une autre série d'apex a donc été fixée à ce moment;

c) un dernier lot a été maintenu encore pendant 5 semaines en chambre froide et en conditions eupériodiques car nous savions que, dans ces conditions, l'évolution vers la réalisation de l'état floral commençait lentement, soumise au mécanisme du photopériodisme. Les fixations des apex ont eu lieu à la fin de la dix-huitième semaine de séjour au froid.

3° Enfin, des plantes vernalisées ont été étudiées après retour en serre tiède, en conditions eupériodiques. Les fixations furent effectuées à trois moments :

a) au début de l'élongation de la tige : 15 jours après le retour en serre tiède : la tige feuillée mesurait 6 cm de hauteur et présentait 8 entre-nœuds visibles;

b) 19 jours après le transfert en serre, lorsque la tige mesurait 19 cm de hauteur et avait formé 12 entre-nœuds;

c) 24 jours après le retour en serre, alors que la tige, haute de 26 cm, présentait 15 entre-nœuds bien développés, juste avant que les boutons floraux deviennent visibles à l'œil nu.

Comme nous désirions, dans la mesure du possible, comparer le nombre des mitoses dans les diverses coupes, nous avons toujours effectué les fixations des plantes prélevées en serre tiède à la même heure (9 h 45) et, dans le cas des plantes réfrigérées, nous avons partagé chaque lot en deux : la moitié des fixations était faite à 6 h 30 (c'est-à-dire 30 minutes avant la fin de la période froide à +3° C) et les apex des plantes de l'autre demi-lot étaient prélevés et fixés à 18 h 30 (c'est-à-dire 30 minutes avant la fin de la période « diurne » à +11° C).

Pour chaque lot, nous avons fixé au moins 10 plantes, sauf dans le cas des plantes montant à fleur; nous n'en avons alors prélevé que 3 pour garder un nombre suffisant de témoins que nous avons laissé fleurir et fructifier. De ce fait, dans ces dernières séries, nous n'avons pu réaliser que des coupes longitudinales des apex.

II. — RÉSULTATS

A. — STRUCTURE ET FONCTIONNEMENT DU POINT VÉGÉTATIF DES PLANTES TÉMOINS

Les coupes longitudinales axiales montrent un apex dont la surface est plane et plus ou moins elliptique : le grand axe de cette ellipse (suivant lequel les coupes ont été effectuées) atteint 120 à 170 μ; le petit axe mesure environ 100 μ. Cet apex est recouvert par les jeunes

feuilles inclinées à 45° (fig. 33). Il présente une zonation, surtout visible en coupe axiale, au moment où de nombreuses divisions mettent en place les jeunes ébauches foliaires. Les deux assises superficielles

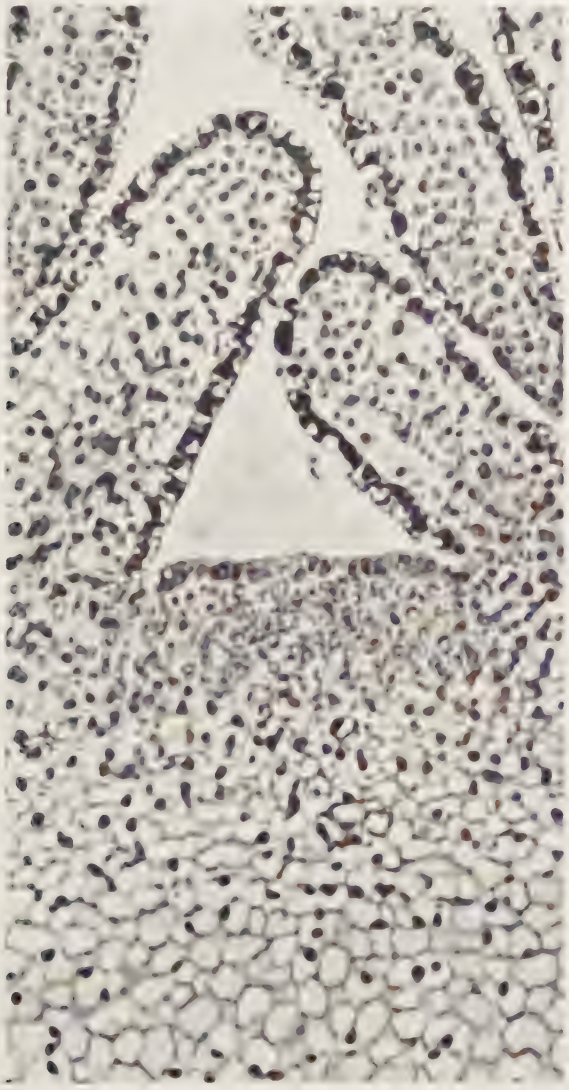


Fig. 33. — Coupe axiale effectuée dans l'apex d'*Œnothera biennis* L. non réfrigérée. Heure de fixation : 9 h 45 (Helly-Feulgen). (Gr. : × 290.)

observées en coupe longitudinale sont formées de petites cellules à caractères très méristématiques : celles-ci ont 6 à 7 μ de largeur et d'épaisseur et environ 8 μ de hauteur; elles sont très peu vacuolisées et leurs noyaux sont gros et sphériques (5 μ de diamètre). Des relevés de

mitoses, effectués selon la méthode de superposition des coupes décrite par Buvat [5] et M^me^ Lance [39], montrent que les divisions sont surtout localisées sur les flancs de l'apex, dans un territoire constituant l'anneau initial organogène, tandis que la zone centrale axiale présente une activité mitotique réduite (fig. 34). En dessous de ce méristème d'attente, des cellules de plus grande taille (environ 12 µ de largeur,

Fig. 34.

Relevé de mitoses obtenu par superposition de 18 coupes longitudinales axiales provenant de 9 apex d'*Œnothera biennis* L. en rosettes non réfrigérées.

za : zone axiale à faible activité mitotique.

ai : anneau initial organogène.

Les traits plein et pointillé figurent les contours des deux apex de taille extrême.

6 µ de hauteur et 7 µ d'épaisseur), à grandes vacuoles et à noyau lenticulaire (environ 6 µ de longueur), forment le méristème médullaire.

Les coupes transversales fournissent des renseignements sur la répartition des feuilles de la rosette et permettent de préciser le fonctionnement du point végétatif (fig. 35 *a*) : deux centres générateurs donnent naissance à des feuilles à insertion large (arcs de 90° à 100°) qui se disposent le long de deux hélices dont le sens d'enroulement est dextre; l'une d'elles porte les feuilles de rang pair n, n-2, n-4, ..., l'autre les feuilles de rang impair n-1, n-3, n-5, ...

Le plastochrone, à la température de la serre (18° à 22° C) et en conditions de journées longues, est d'environ 6 jours.

FIG. 35. — Coupes transversales
au niveau du point végétatif d'*Œnothera biennis* L.

a, plante jamais exposée au froid; *b*, plante réfrigérée pendant 8 semaines; *c*, plante vernalisée par 13 semaines de réfrigération; *d*, plante demeurée en chambre froide pendant 18 semaines.

B. — STRUCTURE ET FONCTIONNEMENT DU POINT VÉGÉTATIF DES PLANTES RÉFRIGÉRÉES

L'apex des plantes soumises au froid conserve dans tous les cas la structure décrite avec une surface supérieure en plateau (fig. 36, 37, 38), mais on observe des différences avec les plantes témoins. Elles se résument en quelques points :

— La surface de l'apex est nettement moins grande; la plus grande

dimension du plateau apical est seulement de 80 à 100 μ après 18 semaines de vie au froid. L'apex continue en effet à édifier des

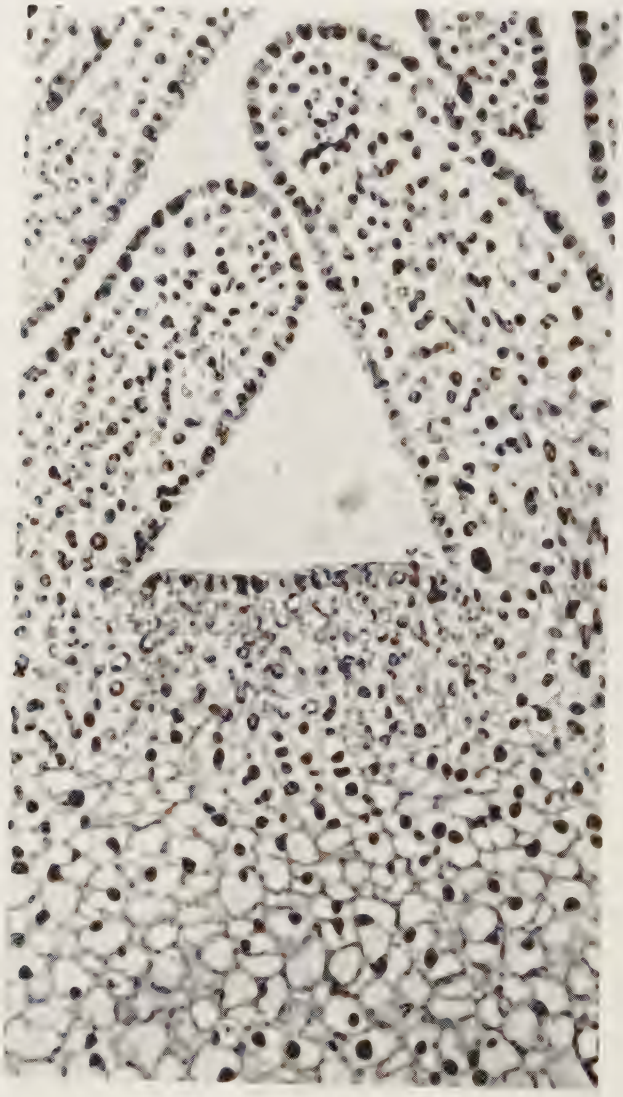


Fig. 36. — Coupe axiale effectuée dans l'apex d'*Œnothera biennis* L. réfrigérée pendant 8 semaines.
Heure de fixation : 18 h 30 (Helly-Feulgen). (Gr. : × 290.)

ébauches de feuilles, mais ne restaure pas ses dimensions antérieures en se régénérant.

— La zonation existe toujours mais elle se marque plus discrètement.

— Les mitoses sont beaucoup moins nombreuses : on en voit très

rarement sur les coupes effectuées dans les apex prélevés en fin de période froide. Et nous ne disposions pas d'un nombre suffisant d'exemplaires pour que des relevés chiffrés puissent avoir une valeur statistique. Sur les coupes effectuées dans les apex prélevés à la fin de la période de réchauffement diurne, les mitoses sont plus nombreuses : environ 12 à 15 par coupe axiale observée. Elles sont localisées princi-

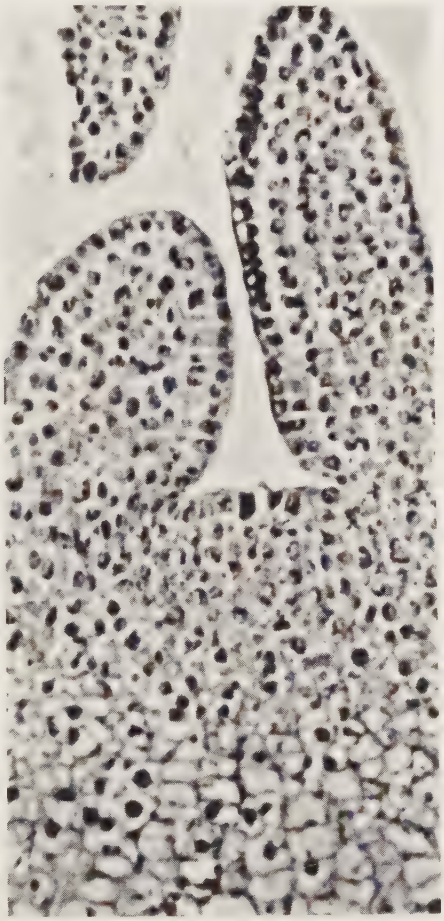


Fig. 37.

Coupe axiale effectuée dans l'apex d'*Œnothera biennis* L. réfrigérée pendant 13 semaines.
Heure de fixation : 18 h 30 (Helly-Feulgen). (Gr. : × 290.)

palement dans la zone latérale organogène : il en existe dans les assises superficielles où les cloisonnements sont anticlines et, surtout, dans les assises plus profondes où les cloisonnements sont périclines. Les travées de cellules médullaires sont de plus en plus nettement marquées.

— Les cellules des assises superficielles observées dans les coupes longitudinales sont de plus grande taille que dans les apex des plantes témoins non réfrigérées : environ 10 μ de largeur sur 12 μ de hauteur et 8 μ d'épaisseur; leur noyau est sphérique, son diamètre est voisin de 7 μ. Dans le méristème médullaire, on remarque, de même, un

accroissement notable des dimensions cellulaires : 16 à 17 μ de largeur, 7 à 8 μ de hauteur, 6 à 7 μ d'épaisseur, le noyau lenticulaire est long d'environ 6 μ.

Fig. 38. — Coupe axiale effectuée dans l'apex d'*Œnothera biennis* L. réfrigérée pendant 18 semaines.
Heure de fixation : 18 h 30 (Helly-Feulgen). (Gr. : × 290.)

Le plastochrone est d'environ 25 jours pendant les 8 à 10 premières semaines à basses températures; il diminue ensuite pour atteindre 18 à 20 jours en fin de séjour en chambre froide.

Les feuilles formées sont beaucoup plus massives et trapues, plus larges et moins hautes. Les feuilles anciennes, probablement juste

initiées lorsque survient la réfrigération, recouvrent, comme une sorte de capuchon, la région apicale et les jeunes ébauches. L'exposition au froid ayant brusquement perturbé leur croissance, des anomalies en résultent : elles se manifestent ultérieurement par des déformations particulières : limbes gaufrés, pétioles tordus.

Les coupes transversales montrent que les insertions foliaires sont de plus en plus réduites à mesure que la réfrigération se poursuit (arcs de 80°, puis de 70° seulement en fin de séjour au froid) (fig. 35 *b, c, d*). Ainsi, les jeunes primordiums foliaires sont de plus en plus massifs; leur surface interne, tournée vers l'apex, et modelée sur celui-ci, tend à se réduire progressivement.

Au terme des 18 semaines de réfrigération, il n'est plus possible de mettre en évidence les deux hélices foliaires qui, jusqu'à ce moment, caractérisaient le fonctionnement apical (fig. 35, *d*). En effet, « l'état » vernalisé étant alors acquis, l'apex prépare la tige feuillée qui, à partir de la vingtième semaine de réfrigération, commence à s'allonger même si la plante est maintenue au froid. La mise en place des feuilles sur la tige se fait alors suivant trois hélices que l'on peut mettre en évidence en observant la succession des segments foliaires sur une tige : les trois hélices portent respectivement les feuilles de rang n, n + 3, n + 6, ..., n + 1, n + 4, n + 7, ..., n + 2, n + 5, n + 8 ... (fig. 39).

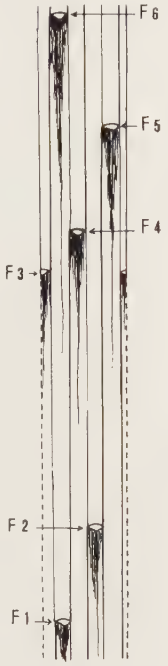


Fig. 39. — Schéma montrant la succession des segments foliaires d'une tige d'*Œnothera biennis* L.
La tige est supposée cylindrique et ouverte selon une génératrice.
F_1, F_2, F_3,... représentent les insertions foliaires.

C. — ÉVOLUTION DE L'APEX DES PLANTES VERNALISÉES ET EXPOSÉES A DES CONDITIONS EUPÉRIODIQUES : LA MISE A FLEUR

Les coupes longitudinales axiales faites dans le sommet de la jeune tige feuillée au début de son allongement montrent une structure différente de celle de l'apex de la plante en rosette. Le méristème, élargi, est fortement surélevé par des cloisonnements profonds. L'activité mitotique tend à envahir la zone axiale. Les cellules des quatre assises superficielles ont alors certains des caractères histologiques de celles qui forment l'anneau initial : vacuoles réduites, gros noyau sphérique.

Fig. 40. — Formation des ébauches chez *Œnothera biennis* L. (Helly-Feulgen). (Gr. : × 290.)
b : bractée; *fl* : ébauches florales.

En coupe longitudinale, leurs dimensions sont les suivantes : largeur 6 à 7 μ, hauteur 8 à 9 μ. Le diamètre de leur noyau est de 5 μ.

Au moment où la tige mesure 19 cm de hauteur, des ébauches florales (fl) sont en place; chacune se forme à l'aisselle d'une bractée

(b) (fig. 40). On reconnaît nettement, à ce moment, les sépales et les ébauches des étamines (fig. 41).

Lorsque la tige atteint 26 cm de hauteur, 4 à 5 jours avant que les premiers boutons floraux deviennent visibles à l'œil nu, les fleurs dispo-

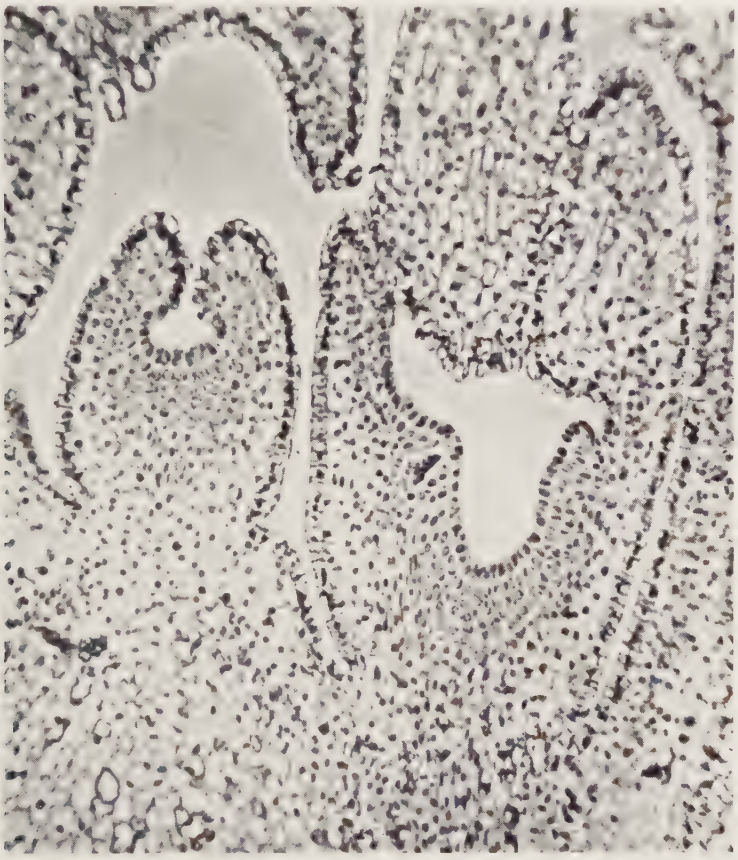


Fig. 41. — Ebauches florales d'*Œnothera biennis* L. (Helly-Feulgen). (Gr. : × 290.)

sées en épi montrent les ébauches de sépales (s), et d'étamines (ét). La cavité dans laquelle se formeront les carpelles se creuse de plus en plus (fig. 42).

III. — CONCLUSIONS

Cette étude nous a permis de mettre en évidence chez *Œnothera biennis* L. var. *sulfurea,* comme Bersillon [2] l'avait fait avec des apex d'Onagres originaires de la région parisienne appartenant vrai-

semblablement (1) à la sous-espèce *Œnothera lamarckiana*, une structure apicale typique avec la surface en plateau, dans laquelle on reconnaît les différents territoires décrits par Buvat et ses collaborateurs (Buvat [5, 6], Mme Lance-Nougarede [39, 40]).

Les travaux de Bersillon, effectués avec du matériel végétal récolté dans la nature, avaient permis de comparer la structure du point végétatif des plantes en cours de réfrigération vernalisante (premières fixations faites au mois de février) et celle du méristème dans sa phase reproductrice (deuxième série de fixations faite au cours du printemps). Ici, nous avons essayé de suivre l'évolution du point végétatif pendant *toute* cette période déterminante pour le développement et l'organogenèse ultérieurs de la plante et nous avons voulu comparer avec des plantes témoins non soumises au froid et cultivées dans des conditions d'environnement contrôlées.

Comme Bersillon, nous pouvons conclure que la structure de l'apex reste du même type pendant toute la phase préparatoire à la mise à fleur. Les modifications observées : ralentissement de l'activité organogène du point végétatif pendant la réfrigération, nombre des mitoses en rapport avec le rythme nycthéméral d'alternances des conditions thermiques, doivent, à notre avis, être considérées comme des conséquences de la vie au froid. Nos résultats, limités par le nombre de plantes nécessaire, ne peuvent permettre de préciser dans quelle mesure ces variations participent à (ou déterminent) l'acquisition de l'aptitude à la floraison.

Par contre, il est intéressant de noter la *reprise progressive* de l'activité apicale au cours de la réfrigération après une période de ralentissement survenu *brutalement*. La reprise de cette activité s'exprime par la *lente production d'ébauches foliaires de plus en plus massives*, dont la surface en regard du méristème se réduit de plus en plus. Elle aboutit, *dès la fin de la vernalisation, même si la plante est maintenue au froid*, à la naissance d'*un troisième centre générateur foliaire*.

Enfin, il est certain que la plante vernalisée, placée en conditions eupériodiques, ne forme pas d'ébauches florales dès le début de son élongation. Un décalage dans le temps sépare l'expression de ces deux phénomènes physiologiques. Ce point nous semble important pour l'interprétation du rôle possible des substances d'élongation du type gibbérelline dans la floraison.

⁂

Les changements dans la morphologie des plantes soumises à la réfrigération vernalisante sont donc dus au ralentissement de l'activité organogène du point végétatif, imposé par la vie aux basses températures; ce ralentissement aboutit progressivement à la réalisation d'une organogenèse différente de celle des plantes vivant toujours au tiède.

(1) Communication orale de l'auteur.

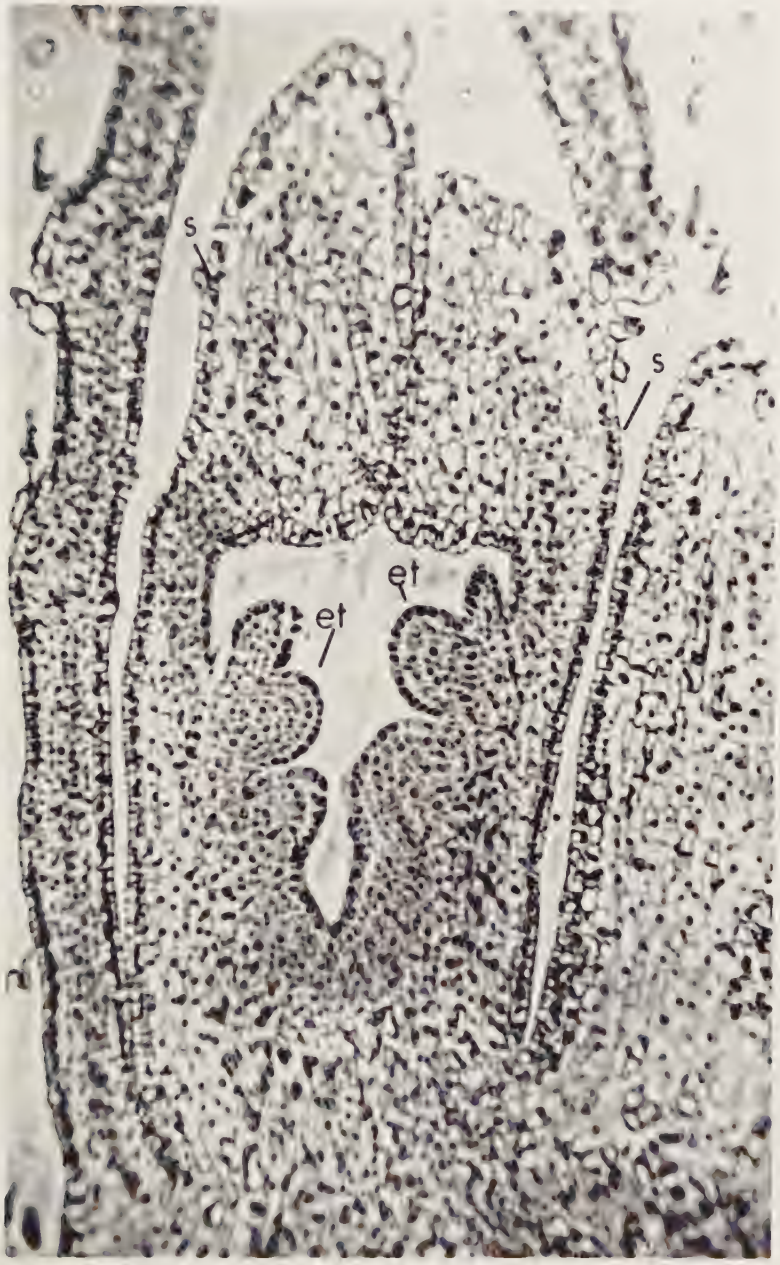


Fig. 42. — Jeune fleur d'*Œnothera biennis* L. montrant les ébauches des sépales *(s)*, des étamines *(et)* (Helly-Feulgen). (Gr. : × 290.)

Ainsi se prépare peu à peu le changement de phyllotaxie lié au passage à la phase reproductrice. En conditions eupériodiques, ce changement commence à s'exprimer au froid dès que la vernalisation est achevée. On comprend mieux comment le fait de maintenir des plantes au froid, en conditions eupériodiques, plus longtemps que la vernalisation ne l'exige, a pour conséquence un début plus précoce de l'élongation de la tige feuillée : nos observations montrent, en effet, que, dans ces conditions, de nouveaux territoires organogènes se trouvent mis en place et commencent à fonctionner.

Ces remarques confirment et appuient les observations portant sur des plantes entières et fournissent des indications utiles pour la conduite des expériences ultérieures à effectuer tant dans le domaine de l'expérimentation purement physiologique que dans celui des études histologiques sur la morphogenèse et l'organogenèse.

CHAPITRE IV

L'ÉVOLUTION DE LA TENEUR EN ACIDES NUCLÉIQUES DES FEUILLES *D'ŒNOTHERA BIENNIS* L. AU COURS DE LA RÉFRIGÉRATION VERNALISANTE

Les caractéristiques écophysiologiques d'*Œnothera biennis* L. prouvent l'importance de l'état de développement végétatif atteint lors de l'action des basses températures. Les expériences faites dans ce domaine montrent aussi, en plus d'autres exigences, la nécessité, pour le déroulement efficace de la vernalisation, d'une certaine croissance pendant la durée de la réfrigération. La notion de maturité de vernalisation évoque l'importance des réactions du métabolisme lors de la préparation à la reproduction. Cela nous a incitée, au début de ce travail, à suivre l'évolution des composés glucidiques et azotés au cours de la vernalisation. Cette étude n'a rien apporté de significatif. Nous avons alors préféré orienter nos recherches vers les rapports possibles entre les acides nucléiques et l'acquisition de l'aptitude à la floraison conférée par les basses températures.

L'importance des acides nucléiques dans les processus de croissance, leur participation fondamentale aux synthèses ont été révélées par les travaux de Caspersson [7], puis par ceux de Brachet [3]. De nombreux chercheurs se sont ensuite attachés à la connaissance de leurs rapports avec l'induction photopériodique. Le caractère autocatalytique de la propagation de l' « état » vernalisé dans la plante, sa transmissibilité par les divisions cellulaires justifiaient une étude du comportement des acides nucléiques au cours de la réfrigération vernalisante. Il eût été intéressant d'en effectuer une analyse qualitative et de faire porter les recherches sur le bourgeon terminal seul. Mais, les moyens techniques d'analyse dont nous disposions, d'une part, le nombre maximal de plantes que nous pouvions réfrigérer, d'autre part, ne nous ont permis qu'une étude de l'évolution de la teneur globale en acide ribonucléique (ARN) et en acide désoxyribonucléique (ADN) des parties aériennes des plantes, au cours de la réfrigération. Nous avons comparé les résultats ainsi obtenus à ceux fournis par l'étude de plantes témoins continuant leur croissance en serre.

I. — TECHNIQUES D'EXTRACTION ET DE DOSAGE DES ACIDES NUCLÉIQUES DANS LES FEUILLES D'ONAGRES

Le choix d'un type d'extraction satisfaisant et l'adaptation d'une technique à notre matériel ont nécessité une mise au point qu'il nous faut décrire ici.

A. — PRINCIPE DE LA MÉTHODE UTILISÉE

1° Il est d'abord indispensable d'éliminer, par divers traitements chimiques successifs, les substances présentes dans les feuilles d'Onagres autres que des acides nucléiques et susceptibles d'interférer ultérieurement avec ceux-ci lors des estimations quantitatives.

2° La poudre sèche ainsi débarrassée des substances gênantes est alors traitée par un acide chaud qui en extrait les acides nucléiques.

3° On effectue enfin une estimation quantitative du phosphore nucléique ainsi qu'un dosage de l'ADN contenus dans cet extrait.

En se référant à des courbes d'étalonnage obtenues à partir de préparations du commerce purifiées en laboratoire, on peut alors aboutir à une estimation relative des deux acides nucléiques présents dans le matériel.

B. — MODE OPÉRATOIRE ET PRINCIPALES PRÉCAUTIONS TECHNIQUES

1° Préparation de la poudre sèche contenant les acides nucléiques.

La méthode de préparation de la poudre sèche servant à l'extraction ultérieure des acides nucléiques, est l'une de celles que propose Kern [33, 34] pour un matériel végétal voisin : les feuilles d'Epilobe.

La fixation des feuilles se fait dans l'éthanol à 96° bouillant.

On procède ensuite à l'élimination des composés solubles dans l'alcool par l'extraction successive du résidu par de l'éthanol à 70°, puis par de l'éthanol à 70° contenant 0,1 % d'acide perchlorique. On effectue un lavage final par de l'éthanol à 96°. Toutes ces opérations se font à 0° C.

Les lipides sont ensuite éliminés par trois extractions successives, de 5 minutes chacune, par un mélange éther-éthanol bouillant (1 volume d'éther/3 volumes d'éthanol).

Enfin un lavage par de l'éthanol à 96° puis 4 extractions *rapides, à 0° C,* par l'acide perchlorique 0,2 N en solution dans de l'éthanol à 50 % permettent l'élimination des substances gênantes absorbant en U. V. qui peuvent rester dans le résidu. Ces opérations sont effectuées le plus rapidement possible, à 0° C, dans une centrifugeuse réfri-

gérée Christ, de sorte qu'il n'y a pas, dans ces conditions, hydrolyse des acides nucléiques.

Le lavage final du culot de centrifugation par de l'éthanol à 96°, puis de l'éther, achève d'éliminer toute trace de substances lipidiques et assure un séchage rapide de la poudre.

2° *Extraction des acides nucléiques.*

Les nombreuses purifications précédentes permettent une extraction simultanée des deux acides nucléiques, basée sur le principe de la méthode de Schneider [71, 72]. Toutefois, à la différence de Schneider

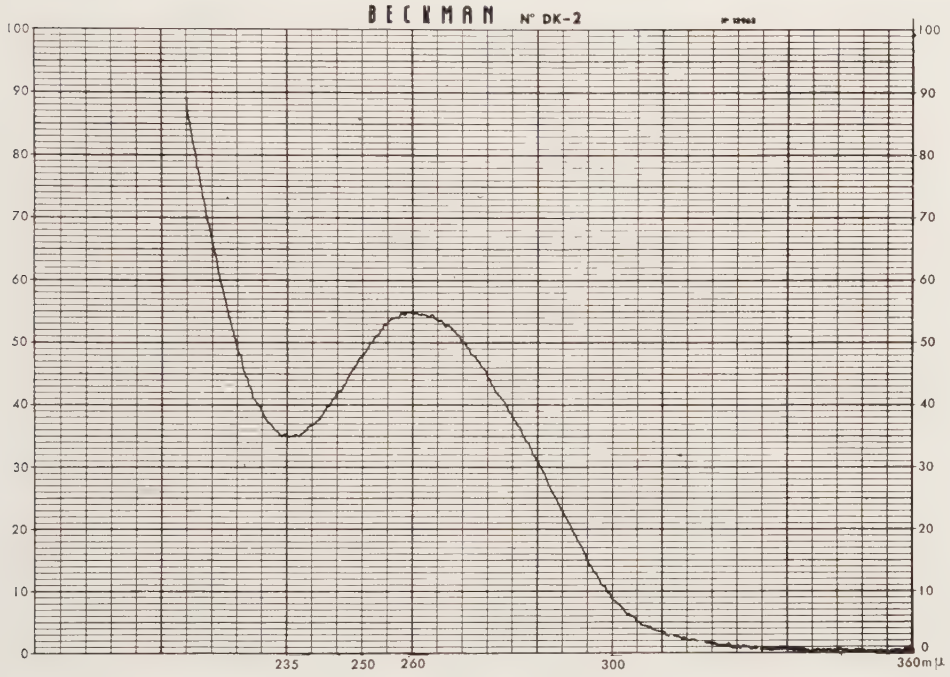


Fig. 43. — Spectre d'absorption en U. V.
d'un extrait perchlorique de feuilles d'Onagres, obtenu après purifications.

et suivant les indications de Kalckar [30], nous avons préféré utiliser comme solvant l'acide perchlorique 0,5 N en raison de son absorption négligeable en U. V.

Après deux traitements successifs par ClO_4H 0,5 N à 70° C (une première fois pendant 30 minutes, la seconde fois pendant 10 minutes), les acides nucléiques sont totalement extraits : on obtient alors le spectre en U. V. caractéristique avec un maximum d'absorption à 258 mμ et un minimum à 235 mμ (fig. 43). Le rapport des densités optiques à 258 mμ et à 235 mμ $\frac{\text{D. O. 258 m}\mu}{\text{D. O. 235 m}\mu}$ est voisin de 1,80.

Pour vérifier l'intégralité de l'extraction des acides nucléiques dans les conditions précédemment décrites, nous avons opéré de la manière suivante :

a) Le résidu d'extraction a été mis en suspension avec du réactif à la diphénylamine préparé selon la technique de Burton [4]. Au bout de 18 heures à 30° C, on n'observait pas la coloration bleue caractéristique de la présence d'ADN. Donc tout l'ADN contenu dans la poudre avait été extrait lors des deux épuisements par ClO_4H 0,5 N à 70° C.

b) Dans quelques cas, nous avons comparé la quantité d'ARN extrait de cette manière à celle obtenue en employant la technique d'extraction prolongée à froid mise au point par Ogur et Rosen [65]. Dans ce cas, des mesures d'extinction à 258 mμ ont conduit à des valeurs comparables à celles auxquelles l'hydrolyse acide à chaud a permis d'aboutir.

3° Estimation des acides nucléiques dans l'extrait perchlorique.

a) L'ADN a été estimé quantitativement grâce à la technique de Burton [4], basée sur la réaction spécifique du désoxyribose avec la diphénylamine en milieu acide et en présence d'aldéhyde. Il y a formation de composés bleus, et la mesure des densités optiques des solutions colorées ainsi obtenues permet une estimation quantitative de l'ADN. Pour cela, on se réfère à une courbe d'étalonnage construite dans le cas présent avec de l'ADN de thymus de veau, purifié par la firme N. B. C. et préalablement soumis au même traitement que les acides nucléiques extraits des plantes (c'est-à-dire action de ClO_4H 0,5 N à chaud).

b) Le phosphore nucléique total a été dosé, après une minéralisation nitrosulfurique soignée, par formation d'un phosphomolybdate et extraction par l'alcool isobutylique, selon la méthode de Ducet et Vandewalle [20]. Une estimation du phosphore contenu dans les acides nucléiques de référence (ADN de thymus de veau et ARN de levure purifié en laboratoire selon la méthode de Vischer et Chargaff [81]) a été faite de la même manière.

Ainsi, connaissant la quantité d'ADN présente, il était possible de calculer la quantité de phosphore contenu dans cet acide et, en la retranchant de la quantité totale de phosphore nucléique, d'estimer indirectement l'ARN présent.

C. — PRÉCISION DES RÉSULTATS

Nous avons déjà signalé le caractère relatif des valeurs chiffrées auxquelles nous aboutissons, du fait de l'utilisation d'acides nucléiques de référence d'origines différentes.

L'appréciation de la précision des valeurs obtenues a été calculée par

la méthode de calcul d'erreur des physiciens. Celle-ci conduit à la remarque suivante : étant donné la nature des techniques employées qui reposent essentiellement sur l'utilisation de matériel de précision (balance Mettler, fioles et pipettes jaugées...), les seules erreurs aléatoires importantes sont les erreurs commises sur les dosages eux-mêmes. L'erreur relative maximale est l'erreur relative maximale commise lors des dosages eux-mêmes : dosages colorimétriques de l'ADN et du phosphore. L'erreur relative maximale commise lors du dosage de l'ADN est de 5 %. Celle qui est commise lors du dosage du phosphore est de 3 %.

*II. — LES QUANTITÉS D'ACIDES NUCLÉIQUES PRÉSENTES DANS LES FEUILLES D'*ŒNOTHERA BIENNIS *L. PENDANT LA RÉFRIGÉRATION*

A. — PLAN DES EXPÉRIENCES ET MODES D'EXPRESSION DES RÉSULTATS

Nous avons choisi de suivre l'évolution des acides nucléiques dans les feuilles de plantes en rosettes ayant juste un peu dépassé le stade de la maturité de vernalisation.

Nos expériences ont été effectuées deux fois. Chaque lot de plantes étudié était constitué par 5 rosettes. Nous avons choisi de réfrigérer, d'une part, des Onagres cultivées en serre jusqu'à formation de leur 10e feuille, en conditions de journées longues et soumises à la même photopériode pendant le séjour au froid, et, d'autre part, des rosettes parvenues au stade 15e feuille dans les mêmes conditions que les précédentes mais exposées à des journées courtes en chambre froide. Des extractions et des dosages d'acides nucléiques ont été effectués toutes les semaines pendant la durée totale de la réfrigération. (Toutefois, par suite d'un incident expérimental, les résultats, relatifs aux plantes réfrigérées pendant 6 semaines en conditions de journées longues, font défaut.)

Les résultats ont été exprimés en pourcentages d'ARN et d'ADN dans la « matière sèche » d'une part, dans la matière fraîche d'autre part, et enfin en mg d'acides nucléiques par plante.

Nous rappelons que la « matière sèche » ne correspond pas à ce que l'on désigne couramment par ce terme, à savoir toute la matière moins l'eau. La description des purifications préalables à l'extraction des acides nucléiques, montre qu'ici, outre la perte d'eau, il y a eu élimination de divers composés. C'est pourquoi si, faute de mieux, nous devons conserver ce terme de « matière sèche », nous l'écrivons toujours entre guillemets.

Dans le même ordre d'idées, il est clair que le second mode d'expression des résultats (pourcentage d'acides nucléiques dans la matière fraîche) est celui qui a le plus de signification pour permettre des comparaisons et apprécier l'évolution de ces composés dans la plante.

En effet, la teneur en « matière sèche » est liée à l'évolution d'autres constituants de la substance végétale. Ainsi, dans tel cas, une baisse sensible du pourcentage d'acide ribonucléique contenu dans la « matière sèche » ne signifie rien à propos de l'ARN lui-même, car il se trouve qu'à ce moment le pourcentage de « matière sèche » contenu dans la substance fraîche augmente, si bien que, tout compte fait, la quantité d'ARN contenu dans 100 g de feuilles fraîches est inchangée.

En fait, cette remarque consiste à dire que l'on préfère comme système de référence la matière vivante, ce qui est logique. Dans le cas présent, le système de référence qui pourrait sembler le meilleur : c'est-à-dire l'expression par individu vivant, donc par plante, ne peut convenir. En effet, pendant le séjour au froid, la morphologie des plantes subit des changements qui se produisent sensiblement au même moment pour les divers individus constituant les lots : fanaison et chute des vieilles feuilles, formation de nouvelles feuilles... La matière fraîche des parties aériennes des plantes est donc ainsi sujette à une évolution irrégulière et ne peut non plus représenter le système de référence idéal pour la comparaison des résultats.

B. — RÉSULTATS OBTENUS

Les tableaux XIX et XX récapitulent toutes les valeurs obtenues et les divers modes d'expression des résultats. Les figures 44, 45 et 46 traduisent l'évolution des pourcentages d'ARN et d'ADN dans la matière fraîche dans les deux séries de plantes ainsi que celle du rapport $\frac{\text{ARN}}{\text{ADN}}$ dans les deux cas.

La première remarque qui s'impose est qu'*aussi bien en conditions de journées courtes qu'en conditions de journées longues, il se produit une augmentation de la teneur des feuilles en acides nucléiques pendant la réfrigération vernalisante :* ainsi, dans les deux cas, le pourcentage d'ARN contenu dans la substance foliaire fraîche se trouve environ triplé pendant le séjour à basses températures. Le taux d'ADN dans les feuilles se trouve également légèrement augmenté.

D'autre part, cette *augmentation* est *soudaine et rapide :* pour l'ARN, il est très net que cela a lieu pendant la première moitié de la réfrigération. La figure 44 montre qu'un pourcentage maximal d'ARN dans la matière fraîche est atteint à partir de la septième semaine de séjour en chambre froide. L'augmentation du taux d'ADN dans la substance foliaire fraîche est encore plus soudaine (fig. 45), mais le taux d'ADN diminue ensuite peu à peu et, pour des plantes en fin de

Tableau XIX. — Evolution, pendant la réfrigération en conditions de journées longues, de la teneur en acides nucléiques des feuilles de plantes parvenues, en serre, au stade 10e feuille

Durée de réfrigération (semaines)	Matière fraîche par plante (mg)	« Matière sèche » par plante (mg)	« Mat. s. » / Mat. fr. (%)	ARN			ADN			Rapport ARN / ADN
				Pourcentage		mg par plante	Pourcentage		mg par plante	
				Dans la « matière sèche »	Dans la matière fraîche		Dans la « matière sèche »	Dans la matière fraîche		
0	4 600	192	4,2	1,20	0,05	2,3	0,21	0,009	0,4	5,7
1	4 100	194	4,7	1,81	0,08	3,5	0,30	0,014	0,6	6,0
2	3 775	258	6,8	1,64	0,11	3,8	0,34	0,023	0,9	4,8
3	3 900	230	5,9	2,0	0,12	4,6	0,35	0,021	0,8	5,7
4	3 050	191	6,3	2,20	0,14	4,2	0,34	0,021	0,6	6,5
5	2 750	197	7,2	2,26	0,16	4,4	0,35	0,025	0,7	6,5
7	2 875	202	7,0	2,10	0,15	4,2	0,32	0,022	0,5	6,6
8	2 650	191	7,2	2,33	0,17	4,5	0,30	0,022	0,6	7,7
9	2 900	224	7,7	2,33	0,18	5,2	0,27	0,021	0,6	8,6
10	3 000	214	7,1	2,32	0,17	5,0	0,28	0,020	0,6	8,3
11	2 825	209	7,4	2,30	0,17	4,8	0,25	0,018	0,5	9,2
12	2 250	180	8,0	2,36	0,19	4,3	0,18	0,014	0,3	13,1
13	3 050	238	7,8	2,30	0,18	5,5	0,17	0,013	0,4	13,5
14	2 483	189	7,6	2,30	0,18	4,4	0,17	0,013	0,3	13,5
15	2 500	198	7,9	2,28	0,18	4,5	0,17	0,013	0,3	13,4
16	2 900	234	8,0	2,11	0,17	4,9	0,16	0,013	0,4	13,1
17	3 675	275	7,5	2,30	0,17	6,3	0,18	0,013	0,5	12,7

Tableau XX. — Evolution, pendant la réfrigération en conditions de journées courtes, de la teneur en acides nucléiques des feuilles de plantes parvenues, en serre, au stade 15e feuille

Durée de réfrigération (semaines)	Matière fraîche par plante (mg)	« Matière sèche » par plante (mg)	« Mat. s. » / Mat. fr. (%)	ARN			ADN			Rapport ARN / ADN
				Pourcentage		mg par plante	Pourcentage		mg par plante	
				Dans la « matière sèche »	Dans la matière fraîche		Dans la « matière sèche »	Dans la matière fraîche		
0	5 100	251	4,9	1,32	0,06	3,3	0,30	0,015	0,7	4,4
1	5 016	249	4,9	1,63	0,08	4,0	0,33	0,016	0,8	4,9
2	4 367	289	6,6	1,79	0,12	5,1	0,33	0,021	0,9	5,4
3	3 883	256	6,6	1,99	0,13	5,1	0,38	0,025	1,0	5,2
4	3 866	236	6,1	2,09	0,13	4,9	0,36	0,022	0,8	5,8
5	3 750	252	6,7	2,06	0,14	5,2	0,37	0,025	0,9	5,6
6	3 680	250	6,8	2,09	0,14	5,2	0,31	0,021	0,8	6,7
7	3 840	260	6,8	2,48	0,17	6,4	0,36	0,024	0,9	6,9
8	3 536	269	7,6	2,53	0,19	6,8	0,30	0,023	0,8	8,4
9	3 330	250	7,5	2,65	0,20	6,6	0,29	0,022	0,7	9,1
10	3 775	314	8,3	2,37	0,20	7,4	0,26	0,022	0,8	9,1
11	3 750	308	8,2	2,50	0,20	7,7	0,26	0,021	0,8	9,6
12	3 050	246	8,0	2,46	0,20	6,0	0,26	0,021	0,6	9,5
13	3 175	264	8,3	2,45	0,20	6,4	0,25	0,021	0,7	9,8
14	2 700	223	8,3	2,55	0,21	5,7	0,25	0,021	0,5	10,2
15	2 925	245	8,3	2,48	0,21	6,0	0,24	0,020	0,6	10,3
16	3 050	258	8,4	2,51	0,21	6,5	0,23	0,019	0,6	10,9
17	2 850	224	7,9	2,53	0,20	5,6	0,23	0,018	0,5	11

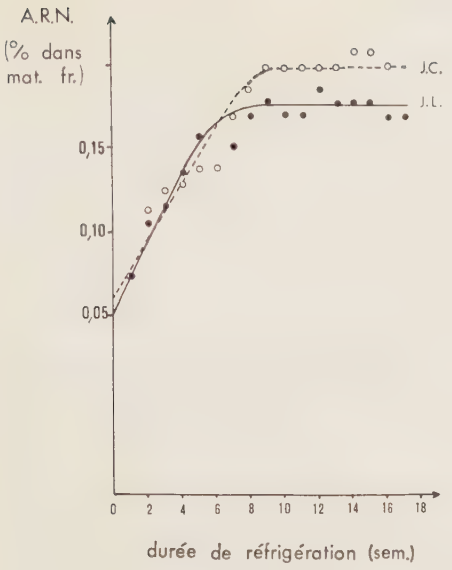


Fig. 44.

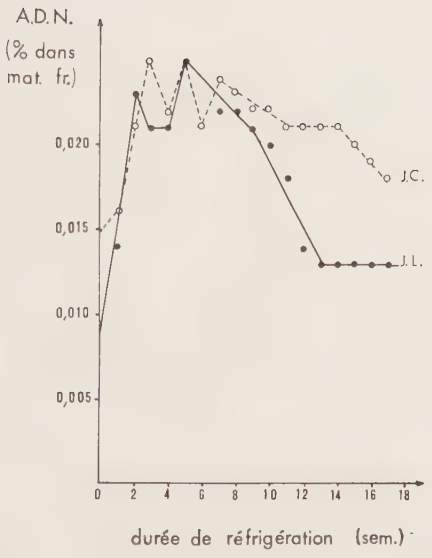


Fig. 45.

Fig. 44. — Evolution du pourcentage d'ARN contenu dans la matière fraîche des feuilles d'Onagres, pendant la réfrigération.

La courbe en trait plein correspond aux plantes ayant formé 10 feuilles en serre, puis réfrigérées en conditions de journées longues; la courbe en pointillé correspond aux plantes ayant formé 15 feuilles en serre, puis réfrigérées en conditions de journées courtes.

Fig. 45. — Evolution du pourcentage d'ADN contenu dans la matière fraîche des feuilles d'Onagres, pendant la réfrigération.

La courbe en trait plein correspond aux plantes ayant formé 10 feuilles en serre, puis réfrigérées en conditions de journées longues; la courbe en pointillé correspond aux plantes ayant formé 15 feuilles en serre, puis réfrigérées en conditions de journées courtes.

Fig. 46.

Evolution du rapport $\frac{\text{ARN}}{\text{ADN}}$ dans les feuilles d'Onagres, pendant la réfrigération.

La courbe en trait plein correspond aux plantes ayant formé 10 feuilles en serre, puis réfrigérées en conditions de journées longues; la courbe en pointillé correspond aux plantes ayant formé 15 feuilles en serre, puis réfrigérées en conditions de journées courtes.

séjour au froid, sa valeur est voisine de celle trouvée pour des rosettes exposées depuis deux semaines aux basses températures.

Le rapport $\frac{\text{ARN}}{\text{ADN}}$ augmente assez régulièrement et, dans les deux groupes de plantes étudiés, lorsque l' « état » vernalisé est atteint, ce rapport est supérieur au double de sa valeur initiale.

III. — COMPARAISON AVEC L'ÉVOLUTION DE LA TENEUR EN ACIDES NUCLÉIQUES DES ROSETTES DÉVELOPPÉES AU TIÈDE

Les observations relatives à l'évolution morphologique et à la croissance des plantes pendant l'action des basses températures ont montré que, pendant la première moitié de la réfrigération, les rosettes perdent peu à peu leurs vieilles feuilles. Cela s'exprime nettement par la diminution de la matière fraîche constituant les feuilles d'une plante.

Nous avons vu également que, peu à peu, des feuilles d'un type particulier commencent à pousser, quelles que soient les conditions photopériodiques à ce moment; leurs ébauches existaient déjà lors de l'exposition au froid et leur croissance s'est ainsi trouvée perturbée, leur mode de développement ultérieur modifié. La « matière sèche » que contiennent alors ces plantes représente un pourcentage de plus en plus important de la matière fraîche totale; cela tient essentiellement à ce que ces plantes renferment moins d'eau que les plantes développées au tiède.

Pendant le séjour au froid, 4 à 5 nouvelles feuilles se sont formées. Il était donc intéressant de comparer les teneurs finales en ARN et en ADN des plantes réfrigérées et celles des plantes ayant continué à vivre en serre jusqu'à ce qu'elles aient formé le même nombre de feuilles.

Nous avons regroupé dans le tableau XXI les résultats obtenus après dosages des acides nucléiques dans les feuilles de plantes parvenues à divers stades morphologiques, cultivées en serre et exposées à des conditions photopériodiques différentes.

Ces valeurs montrent que, pendant toute la période de croissance végétative en serre, en conditions de journées longues, la teneur en ARN de la matière fraîche reste du même ordre de grandeur (0,05 à 0,06 % d'ARN dans la matière fraîche) : elle est toujours nettement inférieure à celle des feuilles de plantes soumises à 7 semaines de réfrigération avec la même photopériode.

Par contre, les dosages des acides nucléiques contenus dans des rosettes se développant en serre en conditions dyspériodiques aboutissent à des valeurs nettement plus élevées qu'en conditions eupériodiques. En particulier, les valeurs du taux d'ARN dans ces plantes sont voisines de celles que l'on trouve pour des plantes vernalisées. La

TABLEAU XXI. — LES TENEURS EN ACIDES NUCLÉIQUES DES FEUILLES DE PLANTES TÉMOINS NON RÉFRIGÉRÉES

STADE MORPHOLOGIQUE ATTEINT PAR LES PLANTES TÉMOINS NON RÉFRIGÉRÉES	MATIÈRE FRAÎCHE PAR PLANTE (mg)	« MATIÈRE SÈCHE » PAR PLANTE (mg)	« MAT. S. » / MAT. FR. (%)	ARN			ADN			Rapport ARN / ADN
				Pourcentage		mg par plante	Pourcentage		mg par plante	
				Dans la « matière sèche »	Dans la matière fraîche		Dans la « matière sèche »	Dans la matière fraîche		
Plantes toujours exposées aux journées longues.										
10e feuille	4 600	192	4,2	1,20	0,05	2,3	0,21	0,009	0,4	5,7
15e feuille	5 100	251	4,9	1,32	0,06	3,3	0,30	0,015	0,7	4,4
60e feuille	10 200	497	4,8	1,20	0,06	6	0,18	0,009	0,9	6,6
70e feuille	10 400	580	5,5	1,16	0,06	6,8	0,17	0,009	1,0	6,8
Plantes toujours exposées aux journées courtes.										
20e feuille	250	13	5,2	2,10	0,11	0,3	0,41	0,021	0,06	5,1
85e feuille	2 650	134	5	2,03	0,10	2,7	0,38	0,019	0,05	5,3

quantité d'ADN, par contre, est égale ou supérieure à celle que l'on trouve pour des rosettes exposées au froid, si bien que le rapport $\frac{ARN}{ADN}$ reste nettement inférieur aux valeurs obtenues pour les plantes vernalisées.

En conclusion, c'est lors de l'acquisition de cette morphologie particulière, intermédiaire entre celle des plantes témoins exposées aux journées courtes et celle des rosettes cultivées en conditions eupériodiques, que l'on trouve un accroissement important de la quantité d'ARN dans les feuilles. De même que l'évolution morphologique et que l'acquisition de propriétés physiologiques particulières en rapport avec la mise à fleur, cette augmentation ne semble pas directement liée à la photopériode subie pendant la réfrigération. Par contre, la teneur en acides nucléiques des rosettes témoins cultivées au tiède est différente selon la photopériode à laquelle les plantes sont soumises pendant leur croissance.

Il faut enfin noter que, si l'on considère la courbe d'évolution pondérale de l'ARN dans la matière fraîche des feuilles d'*Œnothera biennis* L., on peut distinguer *deux phases pendant la réfrigération :* une période initiale pendant laquelle l'augmentation est assez brusque et intense et une période finale qui s'exprime sur la courbe par une stabilité correspondant à un plateau. Si nous rapprochons ce fait des données écophysiologiques acquises, nous remarquons que le moment où l'accumulation d'ARN devient maximale coïncide à peu près avec le moment où l'aptitude à la floraison est acquise.

*
**

Donc, pendant la vie à basses températures, *la teneur des feuilles en acides nucléiques (et tout spécialement en ARN) augmente, en particulier au moment où se trouve acquise l'aptitude à la floraison* (c'est-à-dire pendant la première phase de la réfrigération vernalisante).

Ainsi, la croissance rapide de l'importante tige florifère, qui, dans un bref délai, portera un grand nombre d'organes riches en nucléoprotéines, se fait donc soudainement à partir d'une plante relativement petite, formée d'une souche bourrée de réserves et d'une rosette de feuilles peu nombreuses mais particulièrement riches en acides nucléiques.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

Au terme de cette étude, plusieurs idées générales découlent des faits observés et des résultats obtenus. Nous les développerons ici brièvement en nous efforçant de mettre en relief les faits nouveaux acquis et de regrouper les observations éparses pour en faire une synthèse montrant le synchronisme entre les phénomènes essentiels.

***

Avant toute considération particulière sur la vernalisation d'*Œnothera biennis* L. var. *sulfurea* de Vries, nous tenons à insister sur un fait fondamental : la diversité des comportements écophysiologiques d'espèces végétales voisines. Cette remarque générale a eu une importance particulière dans notre matière de recherche et une répercussion sur l'orientation de notre travail. Comme il s'est trouvé qu'à propos d' « *Œnothera biennis* », d'autres chercheurs ont abouti à des résultats différents des nôtres, nous jugeons utile de faire ici « le point ».

*I. — LA DIVERSITÉ DES COMPORTEMENTS PHYSIOLOGIQUES D'ESPÈCES VOISINES D'*ŒNOTHERA BIENNIS *L. VAR.* SULFUREA *DE VRIES*

Les difficultés rencontrées au début de ce travail ont tenu à la présence, dans les cultures expérimentales, de plantes d'espèces diverses, mais voisines puisqu'elles appartenaient toutes au sous-genre *Eu-Œnothera*. Il s'agissait principalement d'*Œnothera lamarckiana* Ser. et d'*Œnothera parviflora* L. ainsi que de divers hybrides. Les exigences de réfrigération vernalisante de ces plantes étaient des plus diverses et la plupart d'entre elles se sont révélées seulement « préférantes ».

Leur réaction à l'application de gibbérelline fut, de même, très différente de celle d'*Œnothera biennis* L. var. *sulfurea :* ainsi Chouard [13], étudiant, en même temps que nous, l'action de l'acide gibbérellique, a pu obtenir facilement, en l'absence de toute réfrigération, la formation de hautes tiges feuillées chez *Œnothera lamarckiana* et montrer que des doses adéquates d'acide gibbérellique font fleurir cette espèce. Nous avons prouvé que, par contre, il faut appliquer de très fortes doses d'acide gibbérellique à la plante étudiée ici

pour provoquer l'allongement d'entre-nœuds. Nous savons aussi que, de toute façon, la tige ainsi formée n'est jamais haute et, même en conditions eupériodiques, ne porte jamais de fleur.

De même, Chouard a pu aisément vernaliser *Œnothera parviflora* en la soumettant à de basses températures continues que nous savons maintenant inefficaces pour conférer à *Œnothera biennis* L. var. *sulfurea* l'aptitude à la floraison.

Ces trois espèces, pourtant voisines, présentent donc des degrés divers dans l'exigence de froid et leur réponse à l'application de substances d'élongation du type gibbérelline est fort différente.

Dans le même ordre de remarques, il convient de rappeler les résultats relatifs aux Onagres présentés par Muller-Stoll au Congrès de Botanique à Montréal [60]. Là encore, cet auteur, ayant expérimenté sur un matériel provenant de graines récoltées dans la nature, a vraisemblablement utilisé des plantes d'une espèce voisine mais différente. Il nous semble d'ailleurs que le fait qu'il trouve au cours de la vie de la plante « deux périodes distinctes où l'aptitude à la vernalisation est maximale » peut inciter à suggérer que deux populations se trouvaient peut-être en présence dans ses cultures.

Ces remarques confirment l'importance des facteurs de l'environnement dans la répartition naturelle des espèces et variétés. Les multiples exigences manifestées par la plante étudiée ici sont étroitement liées à son caractère de relative rareté dans notre flore.

De cela, il convient de retenir, d'une part, la nécessité d'une détermination précise de l'espèce et de la variété choisies, et, d'autre part, la multitude des enseignements que l'on peut tirer, dans ce genre de recherches, de l'observation des plantes dans leur milieu naturel.

C'est précisément l'évocation du caractère très fluctuant de ce dernier qui nous a conduite à trouver le type particulier des conditions externes que cette plante exige à différents moments de son cycle de développement et qui montre la place des phénomènes rythmiques dans son comportement et sa physiologie.

II. — L'IMPORTANCE DES PHÉNOMÈNES PÉRIODIQUES DANS LES MÉCANISMES LIÉS A LA PRÉPARATION ET A LA RÉALISATION DE LA FLORAISON CHEZ ŒNOTHERA BIENNIS *L. VAR.* SULFUREA *DE VRIES*

La place prépondérante des phénomènes rythmiques dans la physiologie de cette plante se manifeste pendant sa vie en plusieurs circonstances : cela s'est trouvé révélé au cours de ce travail.

C'est tout d'abord l'exigence, pour que la vernalisation puisse se dérouler, d'alternances de températures, probablement même d'une certaine thermopériodicité à rythme court (tel qu'un rythme quoti-

dien). Cette exigence est absolue. Nous ne savons pas, dans ce cas, si c'est le changement de température par lui-même qui est indispensable ou si c'est le rythme de ce changement qui importe. Il est probable que ces deux facteurs jouent un rôle dans l'acquisition de l'aptitude à fleurir. Nous avons choisi le rythme d'alternances quotidiennes, car nous voulions le plus possible « imiter » le froid naturel afin de parvenir à vernaliser cette plante. Il n'est pas absolument certain que ce rythme soit le meilleur possible (c'est-à-dire, en l'occurrence, celui qui permette l'acquisition, dans les meilleurs délais, de l'aptitude à la floraison). Il n'est pas certain non plus que les températures choisies soient les plus favorables : elles se sont seulement révélées les meilleures que nous ayons eu la possibilité d'utiliser. La différence entre les deux températures importe : des basses températures trop voisines l'une de l'autre semblent faire l'effet d'une température constante, un trop grand écart entre les deux températures ne convient pas mieux, car le déroulement de la vernalisation doit alors être perturbé à la température la plus élevée. Pendant cette phase, la plante ne doit donc pas seulement percevoir périodiquement un déclic externe, il lui faut aussi une certaine quantité de froid dans un temps donné.

L'observation du comportement de l'Onagre au moment où elle doit exprimer sa floraison a montré, à ce moment encore, la nécessité d'une certaine fluctuation périodique dans les principaux facteurs de l'environnement. Lors de la phase précédente, la plante n'est sensible qu'aux alternances de températures; cela se conçoit aisément, car c'est le facteur température qui contrôle ce moment déterminant pour la suite de son cycle de vie. La lumière, alors, ne semble intervenir que par son rôle trophique; la plante ne manifeste aucune sensibilité particulière au photopériodisme. Lors du passage à la phase reproductrice, c'est le facteur lumière qui importe, c'est son rythme qui gouverne l'expression de la floraison, mais la plante exige alors aussi, d'une manière plus discrète, une certaine alternance de températures et il doit y avoir synchronisation de la thermopériode et de la photopériode. Cette exigence est telle que, si elle n'est pas satisfaite, la plante perd son « état » vernalisé. Et nous savons, puisque cette dernière phase peut s'accomplir aux basses températures, qu'à ce moment encore, ce n'est pas la valeur absolue de la température qui importe, mais la variation selon un certain rythme.

Chez les végétaux, les phénomènes métaboliques présentent des rythmes. Dans le cas présent, la nécessité d'alternances rythmiques de températures ne correspond-elle pas à des changements périodiques d'états de divers produits du métabolisme général qui interviendraient comme des maillons d'une chaîne de réactions se déroulant depuis la maturité de vernalisation jusqu'à la réalisation de la fleur, suivie de la mort de la plante ? Tout empêchement à ces rythmes bloquerait une de ces réactions ou provoquerait la désorganisation complète de cet enchaînement fondamental dans la vie de cette plante monocarpique.

Quoi qu'il en soit, les réactions métaboliques interviennent de

diverses manières dans la préparation à la mise à fleur : tout d'abord d'une manière indirecte en permettant la réalisation de l'état adulte, puis, bien entendu, d'une manière directe, au cours de la réfrigération en participant, par exemple, aux biosynthèses des substances d'élongation indispensables ultérieurement.

III. — ETAT DE DÉVELOPPEMENT VÉGÉTATIF, CROISSANCE ET EFFICACITÉ DE LA RÉFRIGÉRATION VERNALISANTE

A. — PHASE JUVÉNILE ET ÉTAT DE DÉVELOPPEMENT VÉGÉTATIF

L'existence d'une phase juvénile chez cette plante bisannuelle met en évidence la nécessité d'une croissance végétative minimale pour que les basses températures produisent leurs effets.

Nous avons montré que cette phase est plus longue en conditions de journées courtes pendant lesquelles les plantes croissent moins vite et forment dans le même temps une surface assimilatrice inférieure à celle qui se développe en conditions de journées longues. Néanmoins, lorsque la plante est exposée aux journées courtes, elle atteint la maturité de vernalisation avant d'avoir formé la surface et la quantité de substance foliaires qui, en conditions de journées longues, correspondent à ce stade. Par contre, les feuilles de ces plantes renferment un taux d'ARN double de celui des rosettes juste parvenues à l'âge adulte en journées longues.

La notion de maturité de vernalisation a donc une signification trophique importante et elle traduit aussi la capacité de formation de jeunes feuilles.

B. — PHASE ADULTE ET APTITUDE A LA VERNALISATION

Une fois atteint le stade adulte, la plante devient apte à se reproduire ultérieurement si ses exigences particulières sont auparavant satisfaites. L'aptitude à la vernalisation augmente lorsque la rosette grossit, mais le besoin de froid n'est jamais inférieur à un minimum. Un certain temps de vie à basses températures est donc absolument nécessaire. Une nourriture riche et équilibrée, telle que celle que nous avons choisie pour les expériences en aquiculture, ne déclenche pas la mise à fleur, même au terme d'un essai de longue durée. A propos des cultures sur milieu nutritif évoquées ici, une remarque s'impose : lors du transfert sur solution nutritive, les plantes perdent totalement leurs racines accumulatrices de réserves, à mesure qu'elles forment un chevelu de racines absorbantes. Cet enrichissement nutritif s'ac-

compagne d'un développement intense de tout l'appareil foliaire et de la formation de rosettes axillaires qui deviennent peu à peu indépendantes. Une telle évolution aboutit à une multiplication végétative et ne va pas du tout dans le sens d'une « préparation morphologique » à la mise à fleur. En effet, celle-ci, dans les conditions naturelles, s'accompagne d'une mise en réserve dans les parties souterraines alors qu'en aquiculture les racines perdent ce rôle d'organes de réserve et deviennent semblables à celles de plantes aquatiques.

C. — FACTEURS TROPHIQUES ET CROISSANCE PENDANT LA RÉFRIGÉRATION

Pendant la réfrigération, les plantes doivent être exposées à la température la moins basse pendant la période d'éclairement. En effet, dans les conditions inverses, le déroulement de la vernalisation ne peut s'accomplir, car les plantes parviennent mal à assurer leur nutrition et à survivre.

Le bourgeon terminal isolé ne peut percevoir le stimulus de vernalisation, même s'il est mis en présence d'un milieu nutritif suffisant pour assurer sa survie, la néoformation de racines, puis le fonctionnement du point végétatif et la croissance de jeunes feuilles assimilatrices. La présence d'une surface foliaire suffisamment importante et fonctionnelle est donc nécessaire pendant toute la réfrigération. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Kruzhiline et Shvedskaja [38] qui ont montré que des carottes dépourvues de leurs feuilles ne peuvent être vernalisées. Chez *Œnothera biennis* L., les racines agissent pendant la préparation à la mise à fleur essentiellement comme organes de réserves. Ces dernières sont vite utilisées lors du développement rapide de la tige florifère. A ce propos, nous avons constaté que les racines des plantes vernalisées en chambre froide sont toujours moins tubérisées que celles des plantes qui subissent l'hiver dans la nature. Nous pensons qu'il s'agit d'une conséquence du mode de culture (pour une même température de l'air au niveau des feuilles, les racines des plantes placées en pots dans la chambre froide sont certainement soumises à une température plus basse que celles des rosettes vivant en pleine terre); ce fait nous semble digne d'être signalé.

Au niveau du point végétatif, lors du transfert au froid, l'activité mitotique est brusquement ralentie mais, peu à peu, elle reprend. Dès la fin de la première moitié de la réfrigération, il y a formation de jeunes feuilles massives, enserrant de plus en plus l'apex. Le changement progressif du rythme d'activité de celui-ci aboutit à un remaniement dans l'organogenèse qui prépare une variation de la phyllotaxie.

La photopériode, à ce moment, n'exerce aucun rôle. L'aspect caractéristique des plantes est alors intermédiaire entre celui des plantes cultivées au tiède, en conditions dyspériodiques, d'une part, et en conditions eupériodiques, d'autre part.

L'acquisition de cette morphologie typique coïncide avec une importante accumulation d'acides nucléiques (et spécialement d'ARN) dans les parties foliaires.

Les étapes du passage vers la phase reproductrice contribuent un peu mieux à faire comprendre la nature de l' « état » vernalisé, ainsi acquis après une réfrigération qui peut être décomposée en deux stades : la préparation à la mise à fleur et la préparation à l'élongation indispensable de la tige feuillée.

IV. — LES ÉTAPES ET LE DÉROULEMENT DE LA VERNALISATION. L' « ÉTAT » VERNALISÉ ET SON EXPRESSION

A. — PRÉPARATION A LA FLORAISON ET PRÉPARATION A L'ÉLONGATION

C'est principalement l'action de substances chimiques exogènes, comme la gibbérelline, qui permet d'analyser un peu le mécanisme du déroulement de la vernalisation et d'y reconnaître plusieurs phases.

L'application d'une dose adéquate de gibbérelline à une plante, préalablement soumise à une réfrigération de durée insuffisante (mais néanmoins supérieure à la moitié du délai nécessaire pour la vernalisation), lui permet de former des fleurs en conditions eupériodiques. Cela prouve donc que *l'aptitude à fleurir est déjà atteinte à la fin de la première moitié de la réfrigération.* Une des causes de la non-expression de cette propriété alors acquise est le fait que la plante n'a pas encore formé assez de substances de croissance agissant comme la gibbérelline. Elle en possède déjà cependant une certaine quantité : en effet, même si la dose de gibbérelline exogène est insuffisante pour provoquer la floraison, ou si la plante est placée en conditions dyspériodiques, l'allongement total de la tige est supérieur à celui d'une plante non réfrigérée, traitée par la même dose de gibbérelline.

Le fait que la dose de gibbérelline nécessaire pour provoquer la floraison soit plus faible si la réfrigération préalable a duré plus longtemps, prouve que la quantité de substances de croissance endogènes augmente peu à peu pendant la deuxième moitié de la réfrigération. Nous ne voulons pas dire par là que la biosynthèse de ces composés se déroule totalement pendant cette seconde phase : elle peut très bien avoir débuté un certain temps auparavant et ne s'achever qu'à ce moment. De même, il est possible que les substances formées avant la fin de la réfrigération ne se trouvent pas sous la forme active dans les conditions naturelles : ainsi, nulle formation d'entre-nœuds ne se manifeste dès la 7e semaine de réfrigération. Pourtant, à ce moment, une certaine quantité de substances endogènes du type gibbérelline est présente, et nous savons qu'à basses températures leur

action est possible bien que lente. Nous avons remarqué, d'autre part, qu'après une réfrigération de durée *longue* mais insuffisante pour la vernalisation, les plantes, lors du retour en serre, forment *toujours une très courte tige*, quelles que soient les conditions photopériodiques.

Ceci tend à prouver que, même après un séjour au froid de durée presque égale au minimum nécessaire pour la vernalisation, seule, une petite quantité de substances de croissance est capable d'agir sur le point végétatif pour provoquer l'allongement des entre-nœuds.

Dans le même ordre d'idées, nous avons constaté que, dès le début de la mise à fleur, l'élongation de la tige se trouve stimulée (même à basses températures).

Le rapprochement de toutes ces observations peut laisser supposer que l'initiation florale stimule l'action des substances endogènes du type gibbérelline, les « active » en quelque sorte. (On peut aussi supposer qu'elle lève une inhibition s'exerçant sur l'activité de ces substances). Toutefois, cette stimulation ne peut se faire que s'il y a déjà une certaine élongation préalable. Celle-ci nécessite la présence de la quantité totale de facteurs de croissance formée au terme d'une réfrigération complète. Si l'action des basses températures ne s'est pas fait sentir pendant un temps assez long, l'élongation initiale reste faible (2 à 3 cm), la mise à fleur ne se déclenche pas. Une certaine quantité de gibbérelline exogène peut alors, par son action synergique avec les substances endogènes, permettre un allongement suffisant pour que l'initiation florale ait lieu et que l'élongation des entre-nœuds se trouve ainsi stimulée et entretenue.

Dans le double rôle des basses températures, il faut donc nettement distinguer la préparation à la mise à fleur et la préparation à l'élongation :

— Le « facteur de floraison » est formé et peut révéler son activité dès la fin de la première moitié de la réfrigération vernalisante. Donc, en fait, à ce moment, la vernalisation (définie comme le mécanisme permettant l'acquisition de l'aptitude à fleurir sous l'action des basses températures) est terminée. La deuxième phase de la réfrigération peut être considérée comme une étape ultérieure indispensable à l'expression de la floraison, au même titre que l'induction par les journées longues.

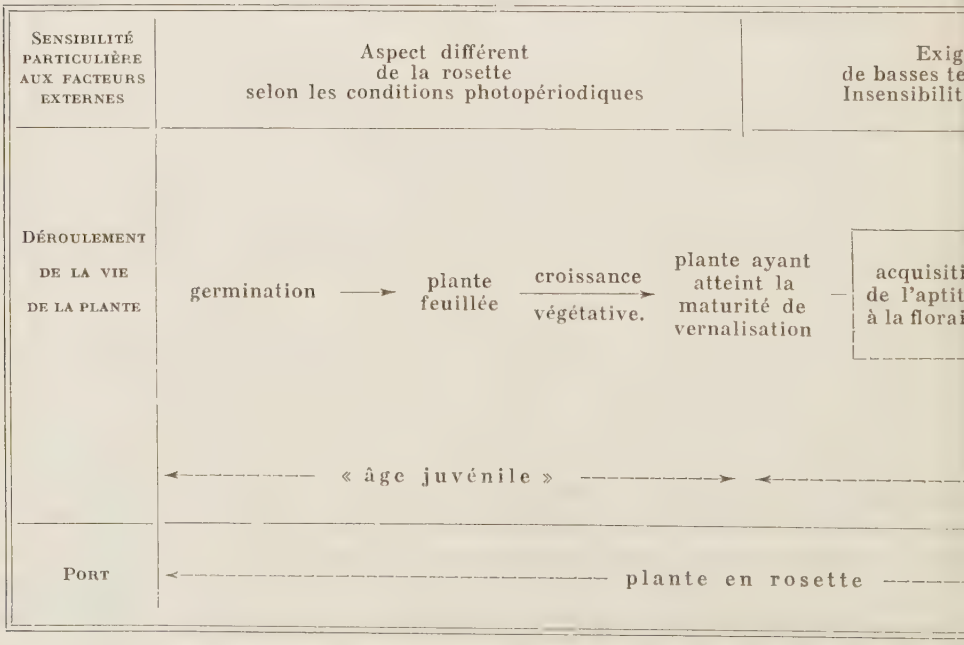
— La préparation à l'élongation ne devient suffisante qu'à la fin de la réfrigération; c'est elle qui détermine la durée de la deuxième phase. Elle se fait progressivement pendant la seconde moitié de l'action des basses températures.

Enfin, le fait que l'acide gibbérellique, même à forte dose, ne fasse pas fleurir *Œnothera biennis* L., var. *sulfurea* non réfrigérée ou insuffisamment réfrigérée et placée en conditions dyspériodiques, doit retenir notre attention. Les premiers travaux importants effectués dans ce domaine de recherche ont, alors, conduit leurs auteurs, et tout particulièrement Lang, à conclure que, d'une manière générale, l'acide gibbé-

rellique faisait fleurir les plantes bisannuelles en rosette à exigence absolue de froid et de journées longues; dans cette vue générale, des plantes comme *Œnothera biennis* L. ne représentaient que des cas particuliers exceptionnels. Il nous semble qu'en fait, on ne peut parler de cas généraux et de cas particuliers, ceux-ci étant numériquement, dans l'état actuel des recherches, aussi importants que ceux-là. D'ailleurs, les résultats obtenus sur *Œnothera biennis* L. apportent une confirmation à l'hypothèse émise dès 1957 par Chouard : chez des plantes en rosette que la gibbérelline fait fleurir, l'aptitude à la floraison préexiste peut-être, mais ne peut s'exprimer par manque de substances de croissance du type gibbérelline; ainsi, chez une plante comme la Jusquiame noire bisannuelle, la « vernalisation » serait, en fait, une simple levée de brachyblastie, correspondant aux processus qui se déroulent lors de la seconde moitié de la réfrigération chez l'Onagre bisannuelle. Ceci pourrait peut-être d'ailleurs expliquer la possibilité de transmission de l' « état » vernalisé par greffage dans le cas de cette Jusquiame.

B. — LA STABILITÉ DE L' « ÉTAT » VERNALISÉ AVANT LE VIRAGE VERS L'ÉTAT FLORAL : LA DÉVERNALISATION

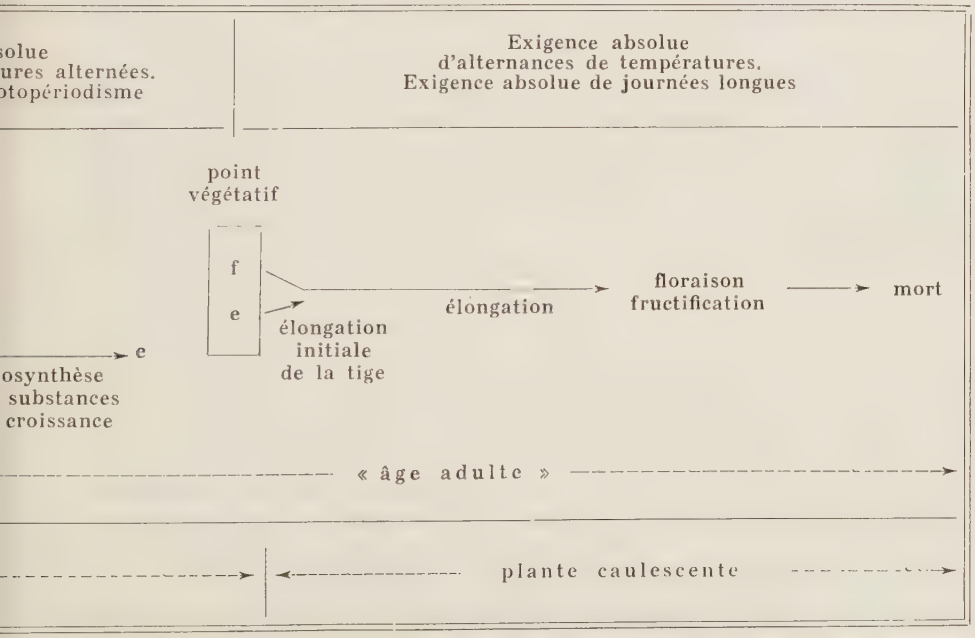
Comme cela a déjà été mis en évidence chez bien d'autres plantes (chez le Seigle d'hiver cultivar. « Petkus » par Gregory et Purvis, chez la Jusquiame noire de race bisannuelle par Melchers et Lang...),



nous avons constaté que les hautes températures font perdre à *Œnothera biennis* L. var *sulfurea* l' « état » vernalisé acquis par une réfrigération adéquate. N'ayant pas fait une analyse de ce mode de dévernalisation, nous nous attacherons essentiellement à deux faits originaux et, tout d'abord, à la perte de l' « état » vernalisé par exposition à des conditions dyspériodiques.

Nous avons observé qu'à des températures tièdes, une exposition de 2 à 3 semaines à un éclairement dyspériodique fait perdre aux plantes vernalisées l'aptitude à fleurir. Les modalités de la floraison dans des conditions d'exposition à la dyspériode trop brèves pour annihiler l'effet du froid, nous renseignent sur la façon dont l'action dévernalisante se fait sentir : tant que la plante reste soumise aux conditions de journées courtes pendant un temps assez bref, l'expression de la floraison est suspendue; elle peut se déclencher lorsque les exigences héméropériodiques sont satisfaites et l'élongation débute alors après un délai égal à celui qui est exigé par une plante identique placée immédiatement en conditions favorables. Il y a donc bien arrêt des réactions à la fin de la vernalisation. Ceci nous prouve qu'alors est atteint un « état » stable pendant un certain temps à des températures de 16° à 22° C; cette période de stabilité dure fort longtemps à basses températures car, en chambre froide, il est possible d' « hyper-réfrigérer » des plantes en conditions de journées courtes sans que cela s'accompagne d'une dévernalisation.

Le maintien de conditions de température constantes agit de même en faisant perdre l' « état » vernalisé, mais ici le phénomène est très



rapide. Peut-être un équilibre entre deux formes d'une même substance est-il alors perturbé par l'absence d'alternances de températures ?

Quoi qu'il en soit, toutes ces conditions défavorables à l'expression de la floraison ont probablement chacune une action particulière, mais elles présentent en commun la propriété de faire perdre complètement à la plante son « état » vernalisé. Cela tient essentiellement, à notre avis, à la brièveté de la période de stabilité de cet « état » et à la nécessité d'une évolution immédiate vers la réalisation de l'état floral. Le temps de latence possible avant l'expression de ce que les auteurs de langue anglaise appellent l' « after-effect » des basses températures, n'est donc pas très long. Il nous semble qu'on peut rapprocher cette observation du fait que la réfrigération elle-même, pour être efficace, doit être donnée d'une manière ininterrompue. Tout ceci évoque une chaîne de réactions qui, une fois engagée, peut difficilement être stoppée sans être totalement désorganisée, car elle fait probablement intervenir une ou des substances thermolabiles et elle met peut-être en jeu des alternances successives d'états de diverses molécules qui ne peuvent rester longtemps en équilibre.

*
**

Pour conclure, nous pouvons récapituler en un schéma le cycle de vie d'*Œnothera biennis* L. en précisant ce que l'on sait des exigences particulières de la plante feuillée.

Il résume l'état actuel de nos connaissances et montre l'importance relative des différents facteurs externes dans le déroulement du cycle de vie de cette plante bisannuelle. La première partie que l'on peut qualifier de phase végétative est principalement gouvernée par le facteur température. La seconde, la phase reproductrice, l'est plutôt par le facteur lumière. Mais, pendant toute sa vie, cette plante de climat tempéré est particulièrement sensible au rythme de variation des conditions de l'environnement qui contrôlent son développement. Il nous semble probable que ces fluctuations périodiques (quotidiennes et saisonnières) doivent être en harmonie avec des phénomènes rythmiques endogènes.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Œnothera biennis L. var. *sulfurea* de Vries est une plante bisannuelle typique qui doit absolument subir pendant un certain temps l'action des basses températures pour pouvoir ultérieurement former ses fleurs.

La réfrigération des graines ayant germé est tout à fait inefficace. La plante ne perçoit l'effet vernalisant du froid qu'à l'état de rosette ayant formé un nombre minimal de feuilles : 10 feuilles si la plante est cultivée en conditions de journées longues, 20 feuilles si elle est exposée à des journées courtes. L' « âge juvénile » pendant lequel la plante, trop peu développée, ne peut pas être vernalisée, dure plus longtemps en conditions de journées courtes qu'en conditions de journées longues.

Une fois la maturité de vernalisation atteinte, l'Onagre bisannuelle présente une exigence particulière et capitale : seules, alors, des alternances de basses températures nocturnes et de légers réchauffements diurnes peuvent la rendre apte à fleurir ensuite. La durée d'exposition au froid nécessaire pour la vernalisation est moins grande pour les rosettes plus développées que pour les plantes juste parvenues à l'état adulte. Toutefois, elle n'est jamais inférieure à un minimum (qui reste voisin de 10 semaines dans les conditions d'expérimentation utilisées : +3° C pendant la nuit, +11° C pendant le jour).

La présence d'un nombre suffisant de feuilles et d'une masse suffisante de tubercule ainsi qu'une certaine activité du point végétatif sont indispensables à la perception du stimulus de vernalisation par le bourgeon terminal. Pendant la réfrigération, quelle que soit la photopériode, la croissance végétative continue mais le rythme du fonctionnement apical, d'abord perturbé, change peu à peu et la plante, à la fin de la première moitié de la réfrigération, a acquis une morphologie et un port typiques. A ce moment, la teneur en acides nucléiques des feuilles formées au froid est très supérieure à celle de plantes parvenues, en serre, à un état de développement végétatif important. Cela est tout particulièrement net pour le taux d'ARN dans les feuilles. De même, dès ce moment, l'aptitude à la floraison est acquise et la seconde moitié de la réfrigération consiste en une préparation à l'allongement caulinaire; c'est pendant cette seconde phase que s'achève peu à peu la biosynthèse des substances de croissance indispensables à la formation de la tige feuillée qui portera les fleurs.

Lors du retour en serre, il faut absolument des conditions de journées longues pour que s'exprime l'effet des basses températures.

L'Onagre bisannuelle exige, à ce moment encore, une certaine alternance de températures. Le retard qu'imposent des conditions défavorables à la réalisation de la floraison (exposition aux journées courtes, maintien à une température constante) est assez vite fatal à la reproduction de la plante, car la dévernalisation se produit. L' « état » vernalisé n'est pas stable très longtemps et tout ce qui impose un arrêt dans la chaîne des réactions engagée dès le début de l'action des basses températures perturbe et détruit les équilibres atteints.

Au terme de ce travail, de nouvelles recherches peuvent s'engager sur les bases ainsi acquises : nous pensons en particulier à l'étude de la biosynthèse des substances de croissance au froid et à l'analyse de leur rôle lors de l'exposition aux conditions eupériodiques ainsi qu'à celle de l'action des gibbérellines exogènes lors de la dévernalisation. En même temps, il serait intéressant d'observer l'effet, sur des plantes vernalisées, de substances du type « anti-gibbérellines » ou celle des anti-métabolites retardant la croissance par élongation. Mais c'est surtout l'importance fondamentale des alternances rythmiques de températures qui mériterait une analyse fine.

Il devient, d'ailleurs, après les résultats obtenus au cours de ce travail, assez difficile de faire, pour cette plante, la distinction classique entre thermopériodisme et vernalisation : dans le cas d'*Œnothera biennis* L., la nécessité d'alternances de températures concerne principalement l'acquisition de l'aptitude à fleurir; mais, bien que cette exigence soit ensuite discrète, une thermopériodicité adéquate, impliquant des phénomènes rythmiques (à rythme probablement quotidien) est encore indispensable au moment de l'expression de la floraison. Il ne s'agit, certes, pas d'alternances du même type que celles que nécessite la formation des fleurs chez les plantes bulbeuses, par exemple, et les effets ne sont pas non plus exactement semblables. Nous nous demandons, cependant, si l'on ne pourrait pas considérer la vernalisation comme un processus particulier du thermopériodisme qui contrôle, dans la plupart des régions du monde, le déroulement des cycles de vie et la répartition géographique des plantes.

BIBLIOGRAPHIE

1. Barendse (G. W. M.), 1963. — Devernalisation in *Cheiranthus allionii*. *Proc Kon. Ned. Akad. Wet.*, Series C, **66**, p. 183-188.
2. Bersillon (G.), 1957. — Ontogénie comparée de la tige feuillée et de l'inflorescence chez *Œnothera biennis* L. *C. R. Acad. Sc.*, **245**, p. 1455-1458.
3. Brachet (J.), 1952. — The role of the nucleus and the cytoplasm in synthesis and morphogenesis. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **6**, p. 173-200.
4. Burton (K.), 1956. — A study of the conditions and mechanisms of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem. Journ.*, **62**, p. 315-323.
5. Buvat (R.), 1952. — Structure, évolution et fonctionnement du méristème apical de quelques Dicotylédones. *Ann. Sc. nat., Bot.*, 11e série, **13**, p. 199-300.
6. Buvat (R.), 1955. — Le méristème apical de la tige. *Ann. Biol.*, **31**, p. 596-656.
7. Caspersson (T.), 1941. — Studien über den Eiweissumsatz der Zelle. *Naturw.*, **29**, p. 33-43.
8. Chouard (P.), 1949. — *Pourquoi fleurissent les plantes. Conf. Palais de la Découverte*, Paris, 62 p.
9. Chouard (P.), 1949. — Coup d'œil sur les mécanismes régulateurs du développement : 1° Chez les plantes annuelles et bisannuelles. *Bull. Soc. bot. Fr.*, **96**, p. 218-220.
10. Chouard (P.), 1949. — Coup d'œil sur les mécanismes régulateurs du développement : 2° Chez les plantes vivaces. *Bull. Soc. bot. Fr.*, **96**, p. 235-238.
11. Chouard (P.), 1951. — Plantes bisannuelles vraies et fausses bisannuelles : 1° Rapports de la vernalisation et des autres mécanismes de la bisannualité. *Bull. Soc. bot. Fr.*, **98**, p. 11-14.
12. Chouard (P.), 1957. — Diversité des mécanismes des dormances, de la vernalisation et du photopériodisme, révélée notamment par l'action de l'acide gibbérellique. *Bull. Soc. bot. Fr., Mémoires 1956-1957*, p. 51-64.
13. Chouard (P.), 1958. — Les gibbérellines. Nouveaux facteurs de croissance des plantes à fleurs. *Rev. hort.*, **2222**, p. 1792-1803.
14. Chouard (P.), 1960. — Vernalization and its relations to dormancy. *Ann. Rev. Pl. Physiol.*, **11**, p. 191-238.
15. Chouard (P.), 1960. — Rôles respectifs de la gibbérelline et du froid dans la vernalisation. *Eigenschaften und Wirkungen der Gibberelline.* Symposium Giessen, p. 50-60.
16. Chouard (P.), 1962. — La vernalisation. *XVIth Int. Hort. Congr.*, Bruxelles, p. 9-19.
17. Chouard (P.) et Tran Thanh Van (Mme K. N.), 1962. — Nouvelles recherches sur l'analyse des mécanismes de la vernalisation d'une plante vivace, le *Geum urbanum* L. (Rosacées). *Bull. Soc. bot. Fr.*, **109**, p. 145-147.
18. Chroboczek (E.), 1934. — A study of some ecological factors influencing seed-stalk development in beets (*Beta vulgaris* L.). *Mem. Cornell Agr. Exp. St.*, **154**. p. 1-84.
19. Doorenbos (J.), 1956. — Vernalisation et dévernalisation d'une plante vivace : *Chrysanthemum morifolium* Ram. *Bull. Soc. Fr. Physiol. végét.*, **2**, p. 9-11.
20. Ducet (G.) et Vandewalle (G.), 1959. — Nouvelles techniques de dosage du phosphore. *Ann. Physiol. végét.*, série A *bis*, **2**, p. 199-206.
21. Gassner (G.), 1918. — Beiträge zur physiologischen Charakteristik sommer- und winterannueller Gewächse, insbesondere der Getreidepflanzen. *Z. Bot.*, **10**, p. 417-480.

22. Gregory (F. G.) et Purvis (O. N.), 1936. — Vernalization. *Nature*, **138**, p. 249.
23. Gregory (F. G.) et Purvis (O. N.), 1936. — Vernalization of winter rye during ripening. *Nature*, **138**, p. 973.
24. Gregory (F. G.) et Purvis (O. N.), 1936. — Devernalization of winter rye by high temperature. *Nature*, **138**, p. 1013-1014.
25. Gregory (F. G.) et Purvis (O. N.), 1938. — Studies in vernalisation of cereals. II. The vernalisation of excised mature embryos and of developing ears. *Ann. Bot.*, N. S., **2**, p. 237-251.
26. Harada (H.), 1962. — Etude des substances naturelles de croissance en relation avec la floraison. Isolement d'une substance de montaison. *Rev. Gén. Bot.*, **69**, p. 201-297.
27. Hartman (T. A.), 1956. — After-effects of low-temperature on leaf morphology of *Cichorium Intybus* L. *Proc. Kon. Ned. Akad. Wet.*, **59**, p. 677-684.
28. Heller (R.), 1953. — Recherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés *in vitro*. *Ann. Sc. nat., Bot.*, 11e série, **14**, p. 1-223.
29. Jouglard (C.), 1964. — Contribution à l'étude d'une plante perennante à besoin absolu de vernalisation : *Teucrium Scorodonia* L. (Labiée). *Thèse 3e cycle, Paris*, 55 p.
30. Kalckar (H.), 1947. — Differential spectrophotometry of purine compounds by means of specific enzymes. *J. Biol. Chem.*, **167**, p. 429-486.
31. Kappus (A.), 1957. — Wilde Œnotheren in Südwestdeutschland. *Z. indukt. Abstam. Vererb. Lehre*, **88**, p. 38-55.
32. Kappus (A.), 1958. — Untersuchungen über die Verbreitung der Sulfureamerkmales in Populationen von Wildœnotheren. *Z. indukt. Abstam. Vererb. Lehre*, **89**, p. 647.
33. Kern (H.), 1959. — Ein Beitrag zur quantitativen Bestimmung von Nucleinsäuren in grünen Blättern. *Planta*, **53**, p. 595-601.
34. Kern (H.), 1960. — Zur quantitativen Bestimmung von Nucleinsäuren. *Planta*, **55**, p. 259-273.
35. Klippart (J. H.), 1857. — An essay on the origin, growth, diseases, varieties, etc., of the wheat plant. *Ann. Rep. Ohio St., Bd. Agr.*, **12**, p. 562-816.
36. Kostjucenko (I.) et Zarubailo (T. J.), 1937. — Vernalization of seed during ripening and its significance in practice. *Selek. Semenovod.*, **3**, p. 49 (Anal. dans *Herb. Rev.*, **5**, p. 146-157).
37. Kruzihiline (A. S.) et Shvedskaja (Z. M.), 1958. — La vernalisation des bourgeons isolés de plantes bisannuelles dans les solutions sucrées. *Dokl. Akad. Nauk. S. S. S. R.*, **121**, p. 561-564.
38. Kruzhiline (A. S.) et Shvedskaja (Z. M.), 1960. — Rôle des feuilles dans la vernalisation des plantes d'hiver et bisannuelles. *Fiziol. Rasten*, **7**, p. 287-295.
39. Lance (A.), 1952. — Sur la structure et le fonctionnement du point végétatif de *Vicia faba* L., *Ann. Sc. nat., Bot.*, 11e série, **13**, p. 301-339.
40. Lance-Nougarede (A.), 1957. — Recherches cytologiques sur l'évolution de quelques méristèmes apicaux et sur ses variations provoquées par des traitements photopériodiques. *Ann. Sc. nat., Bot.*, 11e série, **18**, p. 91-421.
41. Lang (A.), 1951. — Untersuchungen über das Kältebedürfnis von zweijährigem *Hyoscyamus niger*. *Züchter*, **21**, p. 241-243.
42. Lang (A.), 1956. — Stem elongation in a rosette plant, induced by gibberellic acid. *Naturwiss.*, **43**, p. 257-258.
43. Lang (A.), 1956. — Induction of flower formation in biennial *Hyoscyamus* by treatment with gibberellin. *Naturwiss.*, **43**, p. 284-285.
44. Lang (A.), 1956. — Gibberellin and flower formation. *Naturwiss.*, **43**, p. 544.
45. Lang (A.), 1957. — The gibberellins and their role in plant growth and development. *Int. Symposium Photo-thermoperiodism*, Parme, p. 55-73.
46. Lang (A.), 1957. — The effect of gibberellin upon flower formation. *Proc. Nat. Acad. Sc.*, **43**, p. 709-717.
47. Lang (A.) et Melchers (G.), 1947. — Vernalisation und Devernalisation bei einer zweijährigen Pflanze. *Z. Naturforsch.*, **2** *b*, p. 444-449.

48. Lang (A.), Sandoval (J. A.) et Bedri (A.), 1957. — Induction of bolting and flowering in *Hyoscyamus* and *Samolus* by a gibberellin-like material from a seed plant. *Proc. Nat. Acad. Sc.*, **43**, p. 960-964.
49. Langeron (M.), 1949. — *Précis de microscopie*. Paris, Masson, 1 430 p.
50. Larrieu (Ch.), 1960. — Etude de la vernalisation et de quelques modalités d'action de la gibbérelline sur une plante vivace en rosette, *Scrofularia alata*. *D. E. S., Paris*, 70 p.
51. Lé (K. N.), 1959. — Nouvelles recherches sur la vernalisation d'une plante vivace, le *Geum urbanum*. *Proc. IXth Int. Bot. Congr.*, Montréal, Abstracts, vol. **II**, p. 21.
52. Lincoln (R. G.), Mayfield (D. L.), Hutchins (R. O.), Cunningham (A.), Hamner (K. C.) et Carpenter (B. H.), 1962. — Floral initiation of *Xanthium* in response to application of an extract from a day-neutral plant. *Nature*, **195**, p. 918.
53. Linder (R.), 1957. — Clé provisoire des Œnothères reconnues en France. *Bull. C. E. R. S.*, Biarritz, p. 571-574.
54. Linder (R.), 1957. — Les *Œnothera* récemment reconnus en France. *Bull. Soc. bot. Fr.*, **104**, p. 515-525.
55. Linder (R.), Jean (R.) et Boutantin (M.), 1957. — Etude des Œnothères en Alsace. *Bull. Soc. Hist. nat. Colmar*, **48**, p. 21-49.
56. Lyssenko (T.), 1953. — *Agrobiologie*. Moscou, Editions agricoles d'Etat, 661 p.
57. Margara (J.), 1960. — Recherches sur le déterminisme de l'élongation et de la floraison dans le genre *Beta*. *Thèse Doctorat, Paris*, 117 p.
58. Melchers (G.), 1937. — Die Wirkung von Genen, tiefen Temperaturen und blühenden Pfropfpartnern auf die Blühreife von *Hyoscyamus niger* L. *Biol. Zbl.*, **57**, p. 568-614.
59. Melchers (G.) et Lang (A.), 1941. — Weitere Untersuchungen zur Frage der Blühhormone. *Biol. Zbl.*, **61**, p. 16-39.
60. Muller-Stoll (W. R.) et Hartmann (W.), 1959. — Vernalisationsphasen und Stoffwechselerscheinungen bei zweijährigen Pflanzen. *Proc. IXth Int. Bot. Congr.*, Montréal, Abstracts, vol. **I**, p. 275-276.
61. Murneek (A. E.) et Whyte (R. O.), 1948. — *Vernalization and photoperiodism*. Waltham, Chronica Botanica, 196 p.
62. Napp-Zinn (K.), 1957. — Untersuchungen über das Vernalisationsverhalten einer winterannuellen Rasse von *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, **50**, p. 177-210.
63. Napp-Zinn (K.), 1957. — Die Abhängigkeit des Vernalisationseffektes bei *Arabidopsis thaliana* von der Dauer der Vorquellung der Samen sowie vom Alter der Pflanzen bei Beginn der Vernalisation. *Z. Bot.*, **45**, p. 379-394.
64. Napp-Zinn (K.), 1961. — Vernalisation und verwandte Erscheinungen. *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, **16**, p. 24-75, Ruhland, éd.
65. Ogur (M.) et Rosen (G.), 1950. — The nucleic acids of plant tissues. I. The extraction and estimation of desoxypentose nucleic acid and pentose nucleic acid. *Arch. Biochem.*, **25**, p. 262-276.
66. Purvis (O. N.), 1944. — Studies in vernalisation of cereals. VIII. The role of carbohydrate and nitrogen supply in the vernalisation of excised embryos of Petkus winter rye. *Ann. Bot.*, N. S., **8**, p. 285-314.
67. Purvis (O. N.), 1960. — Effect of gibberellin on flower initiation and stem extension in Petkus winter rye. *Nature*, **185**, p. 479.
68. Purvis (O. N.), 1961. — The physiological analysis of vernalisation. *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, **16**, p. 74-122, Ruhland, éd.
69. Purvis (O. N.) et Gregory (F. G.), 1937. — Studies in vernalisation of cereals. I. A comparative study of vernalisation of winter rye by low temperature and by short days. *Ann. Bot.*, N. S., **1**, p. 569-592.
70. Purvis (O. N.) et Gregory (F. G.), 1952. — Studies in vernalisation of cereals. XII. The reversibility by high temperature of the vernalised condition in Petkus winter rye. *Ann. Bot.*, N. S., **16**, p. 1-21.

71. Schneider (W. C.), 1945. — Phosphorus compounds in animal tissues. I. Extraction and estimation of dexoxypentose nucleic acid and of pentose nucleic acid. *J. Biol. Chem.*, **161**, p. 293-303.
72. Schneider (W. C.), 1946. — Phosphorus compounds in animal tissues. III. A comparison of methods for the estimation of nucleic acids. *J. Biol. Chem.*, **164**, p. 747-751.
73. Schwabe (W. W.), 1950. — Factors controlling flowering in the *Chrysanthemum*. *J. Exp. Bot.*, **1**, p. 329-343.
74. Schwabe (W. W.), 1951. — Factors controlling flowering in the *Chrysanthemum*. *J. Exp. Bot.*, **2**, p. 223-237.
75. Schwabe (W. W.), 1952. — Factors controlling flowering in the *Chrysanthemum*. *J. Exp. Bot.*, **3**, p. 430-436.
76. Schwabe (W. W.), 1954. — Factors controlling flowering in the *Chrysanthemum*. *J. Exp. Bot.*, **5**, p. 389-400.
77. Schwabe (W. W.), 1955. — Factors controlling flowering in the *Chrysanthemum*. *J. Exp. Bot.*, **6**, p. 435-450.
78. Séchet (J.), 1953. — Contribution à l'étude de la printanisation. *Thèse Doctorat, Bordeaux*, 289 p.; *Le Botaniste*, **37**, p. 1-289.
79. Stout (M.), 1946. — Relation of temperature to reproduction in sugar beets. *J. Agr. Res.*, **72**, p. 49-68.
80. Vince (D.) et Mason (D. T.), 1954. — Acceleration of flowering in non-vernalized *Chrysanthemum* by the removal of apical sections of the stem. *Nature*, **174**, p. 842.
81. Vischer (E.) et Chargaff (E.), 1948. — The composition of the pentose nucleic acids of yeast and pancreas. *J. Biol. Chem.*, **176**, p. 715-734.
82. Waterschoot (H. F.), 1957. — Effect of temperature and daylength on flowering in *Dianthus barbatus* L. *Proc. Kon. Ned. Akad. Wet.*, Series C, **60**, p. 318-323.
83. Weber (M.-R.), 1956. — Recherches sur la vernalisation d'une plante vivace : le *Geum urbanum*. *D. E. S., Paris.*
84. Wellensiek (S. J.), 1958. — La base théorique de la floraison. *Ateneo Parmense*, **29**, p. 1-8.
85. Wellensiek (S. J.), 1958. — Vernalization and age in *Lunaria biennis*. *Proc. Kon. Ned. Akad. Wet.*, Series C, **61**, p. 561-571.
86. Wellensiek (S. J.), 1960. — Flower formation in *Campanula Medium*. *Meded. Landbouwhogeschool Wageningen*, **60** (7), p. 1-18.
87. Wellensiek (S. J.), 1961. — Leaf vernalization. *Nature*, **192**, p. 1097-1098.
88. Wellensiek (S. J.), Doorenbos (J.) et Zeevaart (J. A. D.), 1956. — L'action du froid dans le processus de la vernalisation. *Bull. Soc. Fr. Physiol. végét.*, **2**, p. 1-8.
89. West (C. A.) et Phinney (B. O.), 1957. — Purification and properties of gibberellin-like substances from flowering plants. *Plant Physiol.*, **32**, suppl. XXXII.
90. Yabuta (T.) et Hayashi (T.), 1939. — Biochemical studies on bakanae fungus of rice. 2. Isolation of gibberellin, the active principle which produces slender rice seedlings. *J. Agr. Chem. Soc. Jap.*, **15**, p. 257-266.
91. Zeevaart (J. A. D.), 1956. — La transmission de l'effet de vernalisation par greffage. *Bull. Soc. Fr. Physiol. végét.*, **2**, p. 12-13.
92. Zeevaart (J. A. D.), 1958. — Flower formation as studied by grafting. *Thèse, Wageningen*, 88 p.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

LES MÉTHODES D'ÉTUDE DU BILAN D'EAU AU NIVEAU D'UN PEUPLEMENT VÉGÉTAL

VU ET APPROUVÉ :
Paris, le 23 décembre 1964.
Le Doyen de la Faculté des Sciences,
MARC ZAMANSKY.

VU
ET PERMIS D'IMPRIMER :
Le Recteur
de l'Académie de Paris,
JEAN ROCHE.

Soulisse et Cassegrain, Imp., Niort. Dépôt légal : 2e trim. 1965. N° d'ordre : 686.
Masson et Cie, Edit., Paris. Dépôt légal : 2e trim. 1965. N° d'ordre : 4190.
(Printed in France.)